Aus dem Sonderforschungsbereich 92
Biologie der Mundhöhle
(Sprecher: Professor Dr. G. Siebert)
und
aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Professor Dr. R. Naujoks)

UNTERSUCHUNGEN ZUM EINFLUSS DES FLUORIDS AUF DIE NATÜRLICHE FLUORESZENZ VON RATTEN-SCHNEIDEZÄHNEN

Inaugural-Dissertation

verfaßt und

der Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Karl Josef Klinke

aus Rheinbach

Würzburg, den 9. Januar 1981

Aus dem Sonderforschungsbereich 92
Biologie der Mundhöhle
(Sprecher: Professor Dr. G. Siebert)
und
aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Professor Dr. R. Naujoks)

UNTERSUCHUNGEN ZUM EINFLUSS DES FLUORIDS AUF DIE NATÜRLICHE FLUORESZENZ VON RATTEN-SCHNEIDEZÄHNEN

Inaugural-Dissertation

verfaßt und

der Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Karl Josef Klinke

aus Rheinbach

Würzburg, den 9. Januar 1981

Referent:	Prof. Dr. G. Siebert
Korreferent:	Prof. Dr. R. Naujoks
Dekan:	Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 23.2.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

MEINEN ELTERN

UND MEINER FRAU

IN DANKBARKEIT

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dipl. Physiker Dr. rer. nat. Dr. med. habil. E. Gabriel für die Überlassung des Themas und für wertvolle und hilfreiche Kenntnisse in der Problematik der Schnitt- und Poliertechnik sowie der Fluoreszenzmessungen.

Herrn Prof. Dr. G. Siebert gilt mein Dank für die Übernahme des Referats.

Herrn Prof. Dr. R. Naujoks gilt mein Dank für die Übernahme des Korreferates.

Herrn Dipl. Physiker Dr. H. G. Klinger danke ich für die fachliche Unterstützung.

Herrn Dr. H. Gerhard und Herrn Ing. (grad.) T. v. Lüpke danke ich für die Unterstützung bei der Arbeit am Meßgerät ebenso wie Herrn W. Volk für die sorgfältige Wartung der Trennmaschine.

Frau A. Röhl und Frau A. Gilles danke ich für die Hilfe bei der Politur der Zahnschnitte und bei den photographischen Arbeiten.

Den Mitarbeitern des Teilprojektes F3 "Aufnahme, Verteilung und Exkretion von Fluorid bei Menschen und Versuchstieren" im SFB 92, Herrn Prof. Dr. D. Henschler, Frau Prof. Dr. J. Patz, Frau Dr. J. Karle sowie Herrn Dr. H. Bonnekamp danke ich für die Überlassung der Rattenzähne aus ihrer Versuchsreihe.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft in der Projektgruppe "Mikromorphologie der Zahnhartgewebe" des Sonderforschungsbereiches 92 "Biologie der Mundhöhle" (Sprecher: Prof. Dr. G. Siebert) und an der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten (Direktor: Prof. Dr. R. Naujoks) der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg durchgeführt.

GLIEDERUNG DER ARBEIT

1. Einleitung und Problemstellung
2. Literaturübersicht
3. Material und Methode
4. Ergebnisse
5. Diskussion
6. Zusammenfassung
7. Literaturverzeichnis

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543527_0030

INHALTSÜBERSICHT

		Seite
1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Literaturübersicht	3
2.1.	Wachstum und Aufbau des Rattenschneidezahnes	3
2.2.	Untersuchungen der nicht artifiziellen Fluoreszenz von calzifizierten Geweben von Mensch und Tier mit Ausnahme von Rattenzähnen	6
2.2.1.	Die Fluoreszenz von calzifizierten Geweben unter besonderer Berücksichtigung von Zähnen	7
2.2.2.	Versuche zur Darstellung der fluoreszierenden Substanzen	11
2.3.	Untersuchungen der Fluoreszenz von Apatiten und anderen anorganischen, in Zähnen vorkommenden Verbindungen	16
2.4.	Untersuchungen der nicht artifiziellen Fluoreszenz von Rattenzähnen	18
3.	Material und Methode	20
3.1.	Die Versuchstiere und ihre Ernährung	20
3.2.	Präparatherstellung: Einbettung der Zähne und Schnittherstellung	23
3.3.	Festlegung der Meßfelder	26
3.4.	Die Messung der Fluoreszenz-Intensität	28
3.4.1.	Grundlagen der Fluoreszenzanregung und Fluoreszenzemission	28
3.4.2.	Meßapparatur und Durchführung der Messungen	29
3.4.3.	Auswertung der Meßkurven	33

Seite

4. Ergebnisse 35

4.1. Die Gesamtfluoreszenz-Intensität der Zähne in Abhängigkeit von der Fluorid-Gabe 35

4.2. Unterschiede in der Fluoreszenz der verschiedenen Zahnstrukturen in Abhängigkeit von der Fluorid-Gabe 37

4.2.1. Vergleich von Schmelz und Dentin 37

4.2.2. Vergleich von äußerer und innerer Schmelzhälfte 40

4.2.3. Vergleich von pulpennahem und pulpenfernem Dentin 42

5. Diskussion 44

5.1. Die Gesamtfluoreszenz der Zähne 44

5.2. Unterschiede in der Fluoreszenz zwischen Schmelz und Dentin 45

5.3. Unterschiede in der Fluoreszenz zwischen äußerer und innerer Schmelzhälfte 47

5.4. Unterschiede in der Fluoreszenz zwischen pulpennahem und pulpenfernem Dentin 47

5.5. Kritik und Verbesserungsvorschläge 48

6. Zusammenfassung 50

7. Literaturverzeichnis 51

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Zu den wichtigsten Eigenschaften des Zahnmaterials gehören ohne Zweifel große Härte (in Verbindung mit großem Widerstand gegen Abrasion) und geringe Löslichkeit (Resistenz gegen Säuren). Als weitere Zahneigenschaft ist die Farbe aus ästhetischen Gründen von Bedeutung. Sie kann als einzige Zahneigenschaft auch vom Laien unmittelbar beurteilt werden.

Die vom Betrachter wahrgenommene Farbe des Zahnes wird dabei von mehreren Komponenten bestimmt: von der spektralen Zusammensetzung des auffallenden Lichtes, von Reflexions- und Absorptionsvorgängen im Bereich des Zahnes und seiner Umgebung sowie durch Frequenzveränderungen des einfallenden Lichtes aufgrund von Fluoreszenzvorgängen. Solche Fluoreszenzvorgänge sind von der chemischen Zusammensetzung und vom strukturellen Aufbau des fluoreszierenden Materials abhängig. Damit lassen sich über die Ermittlung der Fluoreszenz auch Aussagen über diese Größen machen.

Die besondere Bedeutung der Fluoreszenz wurde erstmals klar, als man künstliche Zähne aus Kunststoff zum Ersatz der natürlichen Zähne verwendete. Der zunehmende Gebrauch moderner Gasentladungslichtquellen auch im privaten Lebensraum des Menschen brachte es mit sich, daß bei wechselnder Beleuchtung Farbdifferenzen zwischen natürlichen und künstlichen Zähnen im Gebiß sichtbar wurden. Daraus ergab sich die Notwendigkeit, die Fluoreszenzeigenschaften sowohl der künstlichen als auch der natürlichen Zähne bei prothetischen und konservierenden Maßnahmen in der Zahnheilkunde als weitere wichtige Materialeigenschaft mehr als bisher zu beachten.

Mit zunehmender Anwendung des Fluorids in der systemischen

und lokalen Kariesprophylaxe gewinnt die Frage an Bedeutung, in welcher Weise das Fluorid die chemische Zusammensetzung der Zahnhartsubstanz und ihre Struktur verändert. Neuere Untersuchungen zeigen, daß sich bei einer systemischen Fluoridanwendung die Verteilung organischer und anorganischer Substanz und ihr Mengenverhältnis ändert. Um zu prüfen, inwieweit die Fluoreszenzeigenschaften eventuell zur Erfassung systemischer Fluorideinwirkungen geeignet sind, haben wir deshalb solche Untersuchungen an Schneidezähnen von Ratten durchgeführt, die mit unterschiedlich fluoridiertem Trinkwasser ernährt worden waren. Die Zähne wurden von Tieren einer Versuchsreihe entnommen, die von einer anderen Arbeitsgruppe unseres Sonderforschungsbereiches zum Studium des Fluoridstoffwechsels bei unterschiedlicher Trinkwasser-Darreichungsform durchgeführt wurden. Wir haben an den so gewonnenen Zähnen anhand von Schliffpräparaten die natürliche Fluoreszenz der Zähne in Abhängigkeit von der Trinkwasserfluoridierung untersucht. Gleichzeitig wurde in einer parallel laufenden Arbeit (NEUMEYER 1980 (60)) an den gleichen Zähnen die Abriebfestigkeit und das Löslichkeitsverhalten untersucht. Dadurch sollte eine möglichst enge Korrelation zwischen diesen drei Meßgrößen Fluoreszenz, Abrieb und Löslichkeitsverhalten möglich gemacht werden, denn wenn das Fluorid bei systemischer Applikation die Zahnstruktur und den Zahnaufbau verändert, ist eine Beeinflussung aller 3 Größen anzunehmen. Beide Arbeiten stehen somit sowohl von der Thematik her als auch von der Präparationstechnik und der Meßtechnik in einem engen Zusammenhang. Beide Arbeiten müssen in Zusammenhang mit den im Sonderforschungsbereich 92 "Biologie der Mundhöhle" bearbeiteten Fragestellungen gesehen werden, die sich mit den Wirkungen des Fluors auf das Zahnwachstum und die Zahneigenschaften im Hinblick auf eine Verbesserung der Kariesresistenz beschäftigen. Das Ziel dieser und der erwähnten parallel laufenden Arbeit ist es, Meß- und Auswerteverfahren für die Bestimmung der genannten Zahneigen-

schaften auszuarbeiten, zu erproben und auf geeignet hergestellte Präparate anzuwenden sowie festzustellen, ob die weitere systematische Untersuchung dieser Größen sinnvoll und mit den ausgearbeiteten Verfahren möglich ist.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. WACHSTUM UND AUFBAU DES RATTENSCHNEIDEZAHNES

Die 4 Schneidezähne der Ratte, 2 obere und 2 untere, sind bogenförmig gekrümmt und liegen mit ihrem weitaus größten Anteil im Kieferknochen (siehe Abb. 1). Es handelt sich bei ihnen, wie bei allen Nagern, um kontinuierlich wachsende Zähne. Dies bedeutet, daß sowohl Ameloblasten als auch Odontoblasten permanent in Funktion bleiben und der Zahn täglich um einen bestimmten Betrag (0,15 - 0,5 mm) wächst. Dieser tägliche Längenzuwachs wird durch den Nagevorgang und die Leerartikulation der Kiefer wieder abgekaut. Dabei werden die Zähne zum labialen Teil hin angeschliffen.

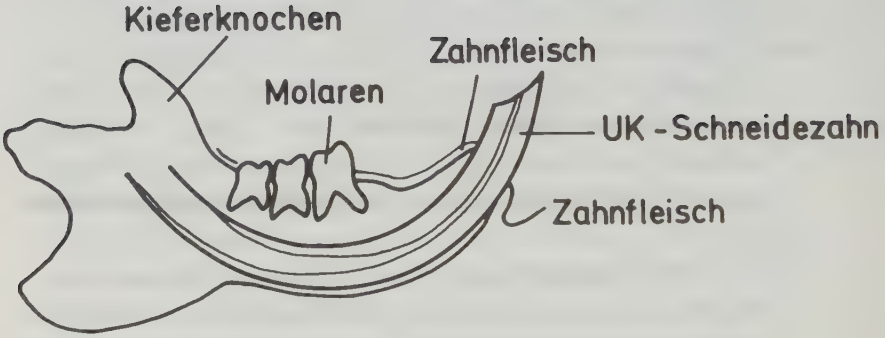


Abb. 1: Die Lage des Ratten-Unterkiefer-Incisiven im Kieferknochen, schematisch, modifiziert nach SHINODA (74). Zum genaueren Aufbau des Zahnes siehe Abb. 3.

Die Schmelzbildung erfolgt nur einseitig und zwar auf der den Lippen zugewandten Zahnseite. An dieser Seite grenzen die Ameloblasten an, die in eine Schmelzmatrix von 3-dimensionaler, netzförmiger Proteinstruktur anorganisches Material sezernieren. In diesem präformierenden Netzwerk wachsen die Apatitkristalle heran (FRANK 1961 (18), FRANK und SOGNNAES 1960 (19), LENZ 1958 (50), WEIDMANN 1959 (83), PAUTARD 1959 (64)). Genauere Untersuchungen über das Kristallwachstum wurden von NYLEN durchgeführt (1963 (61), 1964 (62), 1970 (63)). Mit dem Wachstum des Zahnes in incisaler Richtung wandern auch die Ameloblasten in incisaler Richtung (SMITH und

WARSHAWSKY 1976 (75)) und nehmen dabei entsprechend ihrem jeweiligen Funktionszustand unterschiedliche charakteristische Zellstrukturen an. So folgen in incisaler Richtung 3 Zonen aufeinander: eine präsekretorische, eine sekretorische und eine Reifungszone (WARSHAWSKY und SMITH 1974 (81), SCHROEDER 1976 (72)).

Im Längsschnitt fällt im Mikroskop eine charakteristische Abknickung bzw. Richtungsänderung der Schmelzprismen auf. Diese Abknickung sehen CONNE und BAUME (1970) (13) bei 1/3 der Schmelzdicke unterhalb der Schmelzoberfläche, während WARSHAWSKY und SMITH (1971) (80) den Knick bei nur 1/4 der Schmelzdicke unterhalb der Schmelzoberfläche feststellen konnten. Somit ist der Schmelz in eine äußere und eine innere Schicht unterschiedlicher Dicke einteilbar. Die Neigung der Prismen der inneren Schicht zur Schmelz-Dentin-Grenze beträgt etwa 55^{o} in Richtung Schneidekante, während die der äußeren Schicht etwa im Winkel von 25^{o} zur Schmelz-Dentin-Grenze ebenfalls in Richtung Schneidekante verlaufen.

Während die Prismen der äußeren Schicht, alle parallel zueinander laufend, die Schmelzoberfläche erreichen, laufen die Prismen in der dentinnahen Schicht nur in einer Schicht parallel zueinander. Mit der nächst folgenden Schicht bilden die Prismen einen Winkel von etwa 90 - 120^{o}, was bedeutet, daß zu der Neigung der Prismen incisalwärts um 55^{o} noch eine Neigung nach mesial bzw. distal von 45^{o} - 60^{o} kommt (NYLEN 1964 (62)). Dieser Aufbau stellt eine Art Verbundwerkstoff dar und verleiht dem Schmelz eine besondere Festigkeit. Ähnliche Verbundstrukturen von Schmelzprismenlagen treten auch bei kontinuierlich wachsenden Molaren bestimmter Mäusearten auf. Die Entwicklung solcher Strukturen im Laufe der Evolution hat in jüngster Zeit v. KOENIGSWALD eingehend untersucht (1980 (41)). Die chemische Zusammensetzung des Rattenschneidezahnschmelzes wurde von HALSE (1972 (27), 1974 (28)) eingehend untersucht. Weitere Untersuchungen zur chemischen Zusammensetzung vor allem im Hinblick auf die Fluorverteilung im Schneidezahn wurden von WEATHERELL und Mitarbeitern durchgeführt (siehe hierzu Übersichtsarbeit von WEATHERELL und Mitarbeitern 1977 (82) sowie dort zitierte Literatur.

Während die Farbe des gesunden Schmelzes ein glänzendes Hellbraun ist, stellten BERKOVITZ und HEAP 1976 (6) bei Zähnen, die unter Gabe von mit 25 ppm F^-dotiertem Trinkwasser gewachsen waren, eine Braun-Weiß-Querstreifung fest. Diese braunen Streifen wiesen einen hohen Eisengehalt auf und waren nicht so leicht anzuätzen wie die dazwischen liegenden weißen Streifen.

Die Dentinbildung erfolgt analog der Dentinogenese des menschlichen Dentins. Die Odontoblasten wandern mit dem Längenwachstum weiter incisal wie die Ameloblasten. Bei dieser Dentinbildung verengt sich der Pulpenkanal zur Schneidekante hin, so daß an der Abschliffläche des Zahnes nur noch ein minimaler Durchmesser des Pulpenkavums vorhanden ist, das aber in der Regel durch eingebissene Nahrung oder ähnliches obliteriert ist.

Eine weitere und genauere Beschreibung des Wachstums und Aufbaus des Rattenschneidezahnes ist in der Arbeit von NEUMEYER (60) zu finden.

2.2. UNTERSUCHUNGEN DER NICHT ARTIFIZIELLEN FLUORESZENZ VON CALCIFIZIERTEN GEWEBEN VON MENSCH UND TIER MIT AUSNAHME VON RATTENZÄHNEN

Schon seit dem Altertum ist bekannt, daß organische oder anorganische Substanzen bei Bestrahlung mit Licht in charakteristischen Farben aufleuchten können oder sogar nach dem Ende der Bestrahlung selbst noch einige Zeit Licht aussenden können (zitiert nach McDEVITT (55)). Die Aufklärung der Ursachen der an natürlichen Stoffen zu beobachtenden "Lumineszenzerscheinungen" ist Aufgabe der Physik und Chemie. Während bei anorganischen Substanzen die Ursachen für die Lumineszenzerscheinungen heute verhältnismäßig gut bekannt sind, besteht bei organischen und vor allem bei biologischen Systemen vielfach noch Unklarheit über die chemischen Substan-

zen, welche an den beobachteten Fluoreszenz- und Phosphoreszenzerscheinungen beteiligt sind.

2.2.1. Die Fluoreszenz von calzifizierten Geweben unter besonderer Berücksichtigung von Zähnen

In der älteren, im folgenden zitierten Literatur werden die Begriffe Lumineszenz, Fluoreszenz und Phosphoreszenz nicht immer eindeutig voneinander unterschieden. Zur Definition und Erläuterung dieser Begriffe siehe Abschnitt 3.4.1. .

H. STÜBEL (1911) (76) war wohl der erste, der von der "Lumineszenz" mineralisierter Gewebe berichtete. Er untersuchte eine Reihe von Frosch- und Kaninchengeweben unter U. V. -Bestrahlung und stellte bei Knochen und Zähnen eine bläulich-weiße Fluoreszenz fest. Die Intensität dieser Fluoreszenz von Knochen und Zähnen war im Vergleich mit anderen Geweben sehr stark und wurde nur übertroffen von der Fluoreszenz der Linse des menschlichen Auges.

Seit STÜBEL beschrieben zahlreiche andere Autoren die Fluoreszenz von mineralisierten Geweben. Sie bestätigten in der Regel alle die weiß-blaue Farbe der Fluoreszenz normaler Zähne, manchmal aber mit starken Farbabweichungen. Hier sind, in zeitlicher Reihenfolge, einige dieser Autoren aufgeführt: MACKEY und GARROD 1925 (51); GRAY 1926 (21); v. LEDDEN-HULSEBOSCH 1926 (48); WIETHOLD 1926 (84); BOMMER 1929 (8); LEIX 1930 (49); MAACKE 1931 (51); HEYNE 1932 (32); ZICHEL 1933 (87); JÄGER 1933 (37); EISENBERG 1933 (16); RADLEY und GRANT 1933 (66); TIEDE und CHOMSE 1934 (78); HAMPERL 1934 (29); JENKINS 1937 (39); JUGEL 1937 (40); DAKE und DEMENT 1941 (14); DEMENT 1941 (15); HADJIOLOFF und RUSSEWA 1941 (25); GUSTAFSON 1945 (22); JANSSEN und VISSER 1950 (38); MEINERSEN 1952 (56); HALS 1953 (26);

VASILOW 1957 (79); MGLEJ und DURKACZ 1958 (57); FUCHS und JANCZUCK 1959 (20); ARMSTRONG 1963 (1); ZEGARELLI 1965 (86); WITKOP und WOLF 1965 (85); BRANCHINI und ZANOTTI 1969 (10); LAMENDIN 1973 (44). Da diese Ergebnisse aber alle nach mehr oder weniger subjektiven Kriterien ermittelt wurden und somit starken individuellen Bewertungsunterschieden unterliegen, benutzte F. SCHARF (1974) (71) spektralphotometrische Untersuchungsmethoden, die eine metrische, reproduzierbare Farbbestimmung aufgrund von Messungen durch Vergleich mit normierten Farbtafeln ermöglichen sollten. Er stellte dabei für die Farbe der Lumineszenz von natürlichen Zahnkronen wie auch von den Hartgeweben Schmelz und Dentin von bleibenden Zähnen und von Milchzähnen Werte im Blau mit verschiedenen Sättigungsstufen fest. Nach seiner Meinung ist es demnach nicht gerechtfertigt, für die natürliche Fluoreszenz der Zähne andere Farbtöne als 'Blau' anzugeben. Abweichende Farbtöne fand er selten, sie sollen bei nicht normalen Verhältnissen vorkommen.

In den Jahren 1928 und 1929 hatte BENEDICT (4) (5) festgestellt, daß das Dentin wesentlich stärker fluoreszierte als der Schmelz und offensichtlich mit einem etwas blauerem Licht als dieser. Auch hatte er bemerkt, daß der weiße Fleck, der eine beginnende Karies anzeigt, nicht fluoreszierte. Solch einen weißen Fleck konnte er hervorrufen, indem er einen Paraffin-ummantelten Zahn nach stellenweisem Abkratzen des Paraffin-Mantels über Nacht in verdünnte Essigsäure legte. Weiter hatte er beobachtet, daß sowohl veraschter Schmelz als auch in 50%iger Natronlauge gekochtes Dentin nicht mehr fluoreszierte. Decalzifizierte er Dentin jedoch mit Hilfe von verdünnter Salpetersäure, so blieb die Fluoreszenz-Intensität in einem merklichen Ausmaß erhalten. Aus diesen Beobachtungen hatte BENEDICT den Schluß gezogen, daß es wahrscheinlich die organische Substanz war, die die Fluoreszenz hervorrief.

EISENBERG (1933) (16) bestätigte die Ergebnisse von BENEDICT insofern, als veraschter Schmelz seine Fluoreszenz-Fähigkeit ver-

liert und die nach Decalcifikation zurückbleibende organische Matrix des Schmelzes eine verminderte Fluoreszenz zeigt. Der natürliche weiße Schmelzfleck dagegen, der eine beginnende Karies anzeigt und der decalcifizierte Matrix darstellt, sowie künstlich durch verdünnte Säure hervorgerufene weiße Schmelzflecken zeigten laut EISENBERG ein deutliches Anwachsen der Fluoreszenz, seiner Meinung nach offenbar verursacht durch ein Zunehmen der organischen Substanz.

ZICHEL (1933) (87) führte Fluoreszenz-Untersuchungen an Zähnen mit Hilfe einer Quarz-Lampe und eines Zeiss-Pulfrich-Photometers durch. Er konnte keine Altersabhängigkeit der Lumineszenz-Intensität feststellen. Weiter fand er, daß die Wurzeln von normalen Zähnen weit stärker lumineszierten als ihre Kronen. In frisch extrahierten Zähnen zeigten die Wurzeln immer beinahe die doppelte Lumineszenz-Intensität der Krone. Frisch extrahierte Zähne lumineszierten stärker als die Zähne von begrabenen Leichen, während die Zähne von Ertrunkenen eine bemerkenswert hohe Lumineszenz zeigten.

BOEDECKER (1939) (7) gibt an, daß vitale Zähne häufig leuchtender fluoreszieren als pulpenlose Zähne. Die Ursache hierfür sah er in der 'dentalen Lymphe'.

DAKE und DEMENT (1941) (14) stellten Unterschiede in der Zahnfluoreszenz bei den verschiedenen Menschenrassen fest. Sie geben an, daß die Zähne der weißen Rasse eine bläulich-weiße Fluoreszenz aufweisen, während die Zähne der orientalischen Rassen eine gelblich-weiße Fluoreszenz zeigen.

Die Fluoreszenz von Ochsenzähnen wurde von FONDA und GLASSER (1938) (17) untersucht, mit dem Ziel, eine synthetische Substanz herzustellen, die die gleichen Fluoreszenzeigenschaften besitzt. Sie beobachteten ein Verschwinden der Zahnfluoreszenz beim Erhitzen auf '600°' und mehr. Wurde jedoch nur bis auf '400°' erhitzt, war ein Ansteigen der Fluoreszenz-Intensität festzustellen. Nach Decalcifizierung in Säure und Fällung in Alkali verschwand die Fluoreszenz, konnte jedoch durch wiederholtes Erhitzen auf '400°' wieder-

hergestellt werden. Eine genaue Erklärung dieser Phänomene konnten die Autoren nicht angeben. An synthetischen Produkten fanden diese Autoren, daß Calcium-Phosphate, verunreinigt mit einer organischen Verbindung, fluoreszieren, wenn sie auf '400°' erhitzt werden: bei der Fällung eines Calcium-Salzes mit einer Mischung aus Natrium-Phosphat und Tartrat und Erhitzen auf '400°' entstand eine Mischung aus Calcium-Phosphat-Tartrat, die bei U. V.-Bestrahlung eine hellblaue Fluoreszenz zeigte. Das organische Molekül kann nach ihrer Meinung außer Tartrat auch Succinat oder Lactat sein, ebenso wirken die anorganischen Verbindungen Chromat und Borat. FONDA und GLASSER nahmen an, daß der Mineralphase bei der Fluoreszenz-Entstehung eine entscheidende Bedeutung zukommt.

Die große Bedeutung der Mineralphase bei der Fluoreszenz-Entstehung betont auch BYLER (1938) (12). Auf Grund seiner Untersuchungen hält er es für möglich, daß ein Komplex aus Calcium-Phosphat und einem organischen Anion die Ursache der Knochenfluoreszenz darstellt.

1941 stellten HADJIOLOFF und RUSSEWA (25) fest, daß Zähne, die in einer halbgesättigten Lösung von Natriumchlorid in Salzsäure demineralisiert wurden, ihre Fähigkeit zur Fluoreszenz im U. V.-Licht vollständig verlieren, was die Vermutungen über die entscheidende Bedeutung der Mineralphase unterstützt. Die Ergebnisse dieser makroskopischen, histologischen und embryologischen Untersuchungen zur Lumineszenz der Zähne sind, kurz zusammengefaßt, folgende: 1. Zähne von verschiedenen zoologischen Klassen und Gattungen zeigen verhältnismäßig starke Variationen der Fluoreszenz. 2. Nach der Intensität der Lumineszenz sind die Zähne des lebenden Menschen in 3 Kategorien einzuteilen: schwach, normal und stark. 3. Die Lumineszenz der drei Zahnhartsubstanzen unterscheidet sich durch Intensität und Farbe. 4. Trituration hat keinen Einfluß auf die Lumineszenz und damit ist diese unabhängig von der physikalischen Struktur. 5. Zähne und Knochen zeigen nach unvollständiger Kalzination Lumineszenzerscheinungen. 6. Nach Dekalzinierung

vermindert sich die Lumineszenz, verschwindet aber nicht ganz. Die die Lumineszenz verursachende Substanz oder die Substanzen sind unbekannt. 7. Die lumineszierende(n) Substanz(en) der Zähne bildet oder bilden sich bereits in menschlichen Embryonen von 25 - 30 cm Länge.

2.2.2. Versuche zur Darstellung der fluoreszierenden Substanzen

Aus der vorstehenden Literaturübersicht geht hervor, daß keine Arbeit gefunden werden konnte, die sich mit dem Einfluß des Fluorids auf die Fluoreszenz von Zahnhartgeweben beschäftigt. Die vorstehende Arbeit stellt deshalb einen Versuch dar, den Einfluß des Fluorids im Trinkwasser (welches mit der Magensonde gegeben wurde, siehe Kapitel 'Material und Methode') auf die Fluoreszenzintensität des Zahnhartgewebes von Rattenschneidezähnen zu untersuchen. Wenn sich auch diese Arbeit nicht mit dem Problem beschäftigt, die Darstellung der fluoreszierenden Verbindungen durchzuführen, so soll doch wenigstens versucht werden, die Einflußmöglichkeiten des Fluors auf die Veränderung der Fluoreszenzintensität zu diskutieren. Hierfür ist es wichtig, einen Überblick über die bisherigen Versuche zur Darstellung der fluoreszierenden Verbindungen im Zahnhartgewebe zu gewinnen. Dabei soll zunächst auf die organische Komponente eingegangen werden. Aus der Mineralogie ist außerdem seit langem bekannt, daß auch die im Zahn in kristalliner Form vorkommenden Kalzium-Fluor- sowie -Phosphorsalze (Fluorite und Apatite) fluoreszieren können. Auf die mögliche Beteiligung solcher Substanzen an der Fluoreszenzlichtemission der Zahnhartsubstanz wird in Abschnitt 2.3 näher eingegangen.

Seit den Untersuchungen von BENEDICT (1928 und 1929) wurde in vielen Arbeiten versucht, das Substrat der Zahnfluoreszenz zu finden und die fluoreszierende(n) Substanz(en) darzustellen.

1937 gab HADJIOLOFF (24) Anleitungen für eine systematische Untersuchung der Lumineszenz der Zähne. Die wichtigste Aufgabe war seiner Meinung nach die Auffindung der lumineszenz-tragenden Gruppen oder Substanzen und deren chemische Identifikation. TIEDE und CHOMSE (1934) (78) waren wohl die ersten, die den Versuch unternahmen, durch Extraktion mit einem Lösungsmittel den Fluorophor nachzuweisen. Sie eluierten mit alkalischem Glycerol organische Anteile aus dem Dentin, das daraufhin die Fähigkeit zur Fluoreszenz weitgehend einbüßte, während die abgetrennte organische Substanz diese Fähigkeit besaß. Die dem Zahn verbleibende Fluoreszenz schrieben sie nicht eluierten organischen Anteilen zu. Erst die Behandlung mit Wasserstoffperoxid und Ammoniak führte zum vollständigen Verlust der Fluoreszenzfähigkeit. Der Schluß der Autoren aus diesen Beobachtungen war der, daß die organische Substanz der Fluoreszenz-Träger war, insbesondere das Collagen-Molekül.

HARTLESS und LEAVER (1953) (30) extrahierten mit Hilfe von alkalischem Aethylen-Glycol und alkalischem n-Butanol fluoreszierendes organisches Material aus Dentin. Durch Benutzung verschiedener Adsorptions-Chromatographie-Techniken erhielten sie eine Reihe fluoreszierender Fraktionen, welche U. V. -Absorptions-Maxima im Bereich von 255 - 270 nm aufwiesen, die aber keine selektive Absorption im Bereich von 300 - 350 nm, der Region der Anregung des Dentin-Fluorophors zeigten. Behandelten sie die Extrakte mit Schwefelsäure, so wurde die blaue Fluoreszenz nicht völlig zerstört. Die Autoren schrieben diese Fluoreszenz des Dentin-Extraktes organischen Substanzen, evtl. Aminosäuren, zu und sie waren der Meinung, daß ihre Extrakte ein Pigment enthalten, das zu einer reversiblen Oxidation— Reduktion befähigt ist. Sie haben aber keinen Beweis für die Anwesenheit von Xanthopterin, Riboflavin oder Nicotinamid-Derivaten erbringen können.

Zwei Jahre später veröffentlichten HARTLESS und LEAVER (1955) (31) eine Untersuchung über fluoreszierende Fraktionen aus

den Zähnen des Pottwals. Sie wiesen im Zement der Pottwalzähne Thymin nach und im Dentin ein Pyrimidin mit ähnlichen I. R. - und U. V. -Absorptionseigenschaften wie Thymin, aber in wesentlich geringerer Menge als dieses. Auch ein aetherlösliches basisches Pyrimidin wurde im Dentin gefunden. Die Autoren nahmen an, daß diese Pyrimidine von Nucleoproteinen in den Zahngeweben des Pottwals abstammen und mit den Nucleoproteinen der Dentinkanälchen zur Fluoreszenz des Dentins beitragen.

Mit den Untersuchungen von LAURILA, MANCEWICZ und FORZIATI (1960) (46) begannen verstärkte Bemühungen zur Isolierung der Fluorophore. Aus dem Dentin und den Wurzeln von menschlichen Zähnen isolierten sie fluoreszierende Protein-Komplexe: das Dentin wurde mit Salzsäure oder EDTA demineralisiert, die wasserlöslichen Proteine mit kochendem Wasser extrahiert und mit Aethylalkohol gefällt; die Wurzeln wurden mit alkalischem Aethylen-Glycol extrahiert, diese Lösung mit Aether extrahiert und auf Kohle/Cellulose und Dowex-1-X2 chromatographiert. Diese Proteinkomplexe fluoreszierten blau unter U. V. -Licht. Das Maximum des Aktivierungsspektrums lag bei etwa 330 nm und das Maximum des Fluoreszenz-Spektrums bei 400 nm. Nach Hydrolyse und Papierchromatographie jeder Substanz wurde der einzige Fluoreszenz-Flecken am Auftragungspunkt mit Ninhydrin und spezifischen Reaktionen untersucht. Es zeigte sich die Gegenwart von Aminosäuren aus dem Dentin-Protein. Mit Hilfe von Chymotrypsin, Trypsin, Papain, Pepsin und Collagenase wurde versucht, die fluoreszierende Komponente von der Protein-Matrix freizusetzen, aber ohne Erfolg.

LABELLA (1961) (43) kommt nach einer eingehenden Untersuchung der Fluoreszenz von Elastin, Collagen und Procollagen zu dem Schluß, daß der Fluorophor während der Protein-Synthese in das Molekül eingebaut wird, möglicherweise in die Querglieder der Peptidketten. Der Grund zu dieser Annahme lag darin, daß aus der Haut isolierte Collagen-Vorläufer keine protein-gebundene Fluoreszenz besaßen.

1964 untersuchten HOERMAN und MANCEWICZ (33) verschiedene fluoreszierende Peptide, die aus Knochen isoliert wurden, durch Stärke-Gel- und Cellulose-Säulen-Elektrophorese. Die spektralen Eigenschaften dieser Peptide waren ähnlich denen des collagenen Ausgangsgewebes. Es stellte sich bei den verschiedenen Fluoreszenz-Peaks im Elektropherogramm die Frage, ob es sich hier um unterschiedliche Fluorophore der collagenen Matrix handelte, oder ob es nur ein Fluorophor war, der jeweils mit verschiedenen Peptiden verbunden war.

HOERMAN und BALEKJIAN kamen 1966 (34) zu dem Schluß, daß der fluoreszierende Bestandteil des Collagen-Moleküls in dessen Querbrücken lokalisiert ist. Grundlage für diese Annahme war folgende Beobachtung: die Ketten des Collagen-Moleküls, die Querbrücken besaßen, zeigten bei 89 ^{o}K eine Lumineszenz bei 395 nm, während Ketten des Collagen-Moleküls ohne Querbrücken bei dieser Wellenlänge keine Strahlung emittierten, sondern nur bei 435 nm.

ARMSTRONG und HORSLEY (1966) (2) trennten mit Hilfe einer 'Sephadex'-Ionenaustauschersäule (C. 25CM bei pH 4,2) fluoreszierendes Material aus alkalischen Hydrolysaten von Ochsen-Knochen, von menschlichem Dentin und von Gelatine-Bereitungen in jeweils 2 Komponenten. Diese beiden Komponenten hatten die gleichen Fluoreszenz-Charakteristika wie die nicht getrennten Komponenten, wie die feste und wie die gelöste Matrix: Absorptionsmaxima bei 264 nm und 325 nm, Anregungs- und Emissionsmaxima bei 330 bzw. 400 nm. Durch Bromierung und Permanganat-Oxidation wurde die Fluoreszenz zerstört. Die Autoren diskutieren die beiden Möglichkeiten, daß die Fluoreszenz, die mit den Proteinen von calcifizierten Geweben verbunden ist, verursacht wird durch eine separate Substanz, die an die Matrix gebunden ist, oder daß sie ein Merkmal des Collagen-Moleküls an sich ist. Ihre Ergebnisse lassen die erste Möglichkeit wahrscheinlich erscheinen. Auf Grund der Gel-Filtrations-Ergebnisse schätzen die Autoren das Molekulargewicht des Fluorophors auf weniger als 700.

HORSLEY (35) entwickelte 1967 mit Hilfe der Sephadex C25CM Ionenaustausch-Chromatographie von alkalischen Matrix-Hydrolysaten ein erfolgreiches Verfahren zur Isolierung des charakteristisch fluoreszierenden Materials in calcifizierten collagenen Geweben. Wie sie feststellte, hatte das isolierte fluoreszierende Material das gleiche Fluoreszenz-Spektrum wie die Ausgangssubstanz (Fluoreszenz-Excitations-Maximum von 330 nm, Fluoreszenz-Emissions-Maximum von 395 nm, U. V.-Absorptions-Maxima von 200-220 nm, 264 nm und 325 nm), es war niedermolekular (Molekulargewicht in der Größenordnung der Aminosäuren), es war sehr wahrscheinlich polarer oder ionischer Struktur und fest an die collagene Matrix gebunden.

Nachdem durch die Arbeiten von ARMSTRONG und HORSLEY (2) sowie HORSLEY (35) die ersten Hinweise auf die Größe des Fluorophor-Moleküls gegeben wurden, untersuchte McDEVITT (1970) (55) die fluoreszierende Komponente von calcifizierten Geweben im Hinblick darauf, ob sie aus dem Tyrosin entstanden ist. Es wurden eine Reihe von physikalischen und chemischen Eigenschaften der fluoreszierenden Verbindung ermittelt. Diese zeigten die Gegenwart einer aromatischen oder N-heterocyclischen Ringstruktur im Fluorophor (wie sie z.B. im Tryptophan vorliegen kann), die fest verbunden war mit einem stark sauren Substituenten. Di-Tyrosine konnten nicht nachgewiesen werden. Auch McDEVITT stellte die feste Bindung der fluoreszierenden Komponente an die organische Matrix fest.

In einer weiteren Untersuchung über die fluoreszierenden Bestandteile aus Knochen und Dentin stellten ARMSTRONG und HORSLEY (1972) (3) eine pH-Unabhängigkeit der Fluoreszenz im Bereich von pH 3,5 - 9,5 fest. Die Fluoreszenz-Intensitäten sowie die Erregungs- (λ_{max}=330nm) und Emissions-Spektren (λ_{max}=395nm) waren dieselben wie bei intakten und demineralisierten gelösten Matrizes. Durch Gel-Filtration über Sephadex-G10-Säulen wurde das isolierte Material in 2 Komponenten getrennt mit gleichen U. V.-Absorptions-

und Fluoreszenzeigenschaften. Auch sie stellten die feste Bindung des Fluorophors an die Polypeptidketten des Collagens fest (HORSLEY 1967 (35)).

Aus diesen Untersuchungen ist zu ersehen, daß die Mehrzahl der Autoren die Ursache der Fluoreszenz in den organischen Hartgewebsanteilen findet. Es ist jedoch naheliegend, daß auch der anorganische Anteil zur Fluoreszenz beitragen kann, worauf immerhin einige Autoren hinweisen.

2.3. UNTERSUCHUNGEN DER FLUORESZENZ VON APATITEN UND ANDEREN ANORGANISCHEN, IN ZÄHNEN VORKOMMENDEN VERBINDUNGEN

Bei der Frage nach dem möglichen Beitrag anorganischer Bestandteile zur Fluoreszenz ist in erster Linie Apatit in Betracht zu ziehen. Zur Fluoreszenz von natürlichem Apatit sind in der einschlägigen Literatur eine Reihe von Untersuchungen zu finden. Die von verschiedenen Lagerstätten untersuchten Mineralien weisen dabei je nach Fundort unterschiedliche Fluoreszenzemissionen auf. Außer großen Schwankungen in der Lichtintensität variiert die Farbe des emittierten Lichtes von 'grünlich-gelb' über 'grün' bis rot und orange (zitiert bei IWASE 1935 (36)).

JÄGER, der 1933 (37) Apatit-Atomgruppen als mögliche Ursache der Zahnfluoreszenz angab und die Fluoreszenzfarbe als ein 'Gelb-Grün' beschrieb, erwähnt als Fluoreszenzträger auch das im Schmelz vorhandene "Fluorcalcium". Dessen Fluoreszenz soll jedoch durch Uranyl-Verbindungen, womit "Fluorcalcium" verunreinigt ist, verursacht werden.

IWASE (1935) (36) untersuchte das Fluoreszenzspektrum des Apatites aus 12 verschiedenen Provenienzen im ultravioletten Licht und glaubt die Unterschiede in Helligkeit und Farbe der Fluoreszenz

durch Spurenelementverunreinigungen erklären zu können. Außerdem soll die Kristalltracht des Apatites in naher Beziehung zum Fluoreszenzspektrum stehen. Daß offensichtlich der Gehalt an Spurenelementen einen Einfluß auf das Fluoreszenzspektrum hat, zeigen auch spätere Untersuchungen vor allem russischer Autoren.

1937 untersuchte BROWN (11) eine Reihe von Kristallen auf ihr "Lumineszenzverhalten". Er beobachtete dabei auch für den Apatit Wellenlängen von 2500 Å bis größer als 7000 Å (entsprechend 250 bzw. 700 nm). Er erwähnte, daß das Lumineszenz-Verhalten stark beeinflußt wird durch die Anwesenheit von Mangan und Eisen.

HABERLANDT (1938) (23) berichtete in einer größeren Arbeit über das Lumineszenz-Verhalten von Fluoriten (d.h. Kalzium-Fluoriden) und Apatiten (d.h. Kalzium-Phosphaten). Bei der Mehrzahl der untersuchten Fluorit- und Apatitvorkommen, die eine ausgeprägte Fluoreszenz zeigten, ergab sich ein enger Zusammenhang zwischen der Intensität des Linienfluoreszenzspektrums und dem Gehalt an bestimmten seltenen Erden (Yttrium, Ytterbium, Europium) sowie Mangan, Arsen und Cer. Die Farbe der Fluoreszenz erstreckte sich je nach der Herkunft des Materials und dem Gehalt an bestimmten Verbindungen von violett über gelb-grün bis rötlich.

LECKEBUSCH (1979) (47) beschreibt bei Apatiten aus Portugal eine blaue Lumineszenz mit hellgelben und dunkelgrünen Bereichen, was nach seiner Meinung auf ein lokal wechselndes Einbauverhalten von Mangan zurückzuführen ist.

2.4. UNTERSUCHUNGEN DER NICHT ARTIFIZIELLEN FLUORESZENZ VON RATTENZÄHNEN

Unter "nicht artifizieller Fluoreszenz" wird hier jede natürliche Fluoreszenz der Zähne verstanden, die durch die Wirkung natürlicherweise in den Zähnen vorkommender Fluorophore oder ihrer Vorläufer verursacht wird.

Obwohl die Ratte auch für die Untersuchung der Zahnhartsubstanzen das Versuchstier schlechthin ist und deshalb oft verwendet wurde, muß festgestellt werden, daß Fluoreszenz-Untersuchungen an Rattenzähnen bisher so gut wie gar nicht durchgeführt wurden. Trotz intensiven Literaturstudiums blieb die Zahl der gefundenen Arbeiten sehr klein.

SUTRO (77) berichtete schon 1936 von der Fluoreszenz von Schneidezähnen von Ratten und Katzen. Nach künstlich hervorgerufenem Ikterus zeigte der decalzifizierte Schmelz eine gelbe Fluoreszenz, während das Dentin purpurrot fluoreszierte.

1938 studierten REYNOLDS et al. (68) den Einfluß von Natrium-Fluorid und Parathormon auf Rattenzähne. Sie stellten gegenüber unbehandelten Zähnen bei Beleuchtung mit ultraviolettem Licht eine blau-grüne Fluoreszenz mit dunklen Banden und Flecken fest.

HALS untersuchte 1953 (26) in einer umfangreichen Arbeit mit Hilfe der Fluoreszenz-Mikroskopie im Entwicklungsstadium befindliche, teilmineralisierte Zähne und vollmineralisierte Zähne. Als Untersuchungsobjekt dienten ihm Zähne von Menschen, Schweinen, Ratten, Mäusen, Pferden und Füchsen. Die Hauptergebnisse seiner Arbeit, die die Rattenzähne betreffen, sind folgende:

1) In voll entwickelten Zahnhartgeweben ist die natürliche Fluoreszenz am stärksten in den zuletzt mineralisierten Bereichen.
2) Besonders stark mineralisierte Zonen fluoreszieren überhaupt nicht.

3) Im Dentin ist die Fluoreszenz sowohl in Zahnkeimen als auch in fertigen Zahngeweben stärker als im Schmelz. Dies gilt für nicht decalzifizierte Zahnhartgewebe.
4) Die Fluoreszenzfarbe von Dentin ist blau, die von Schmelz grau-blau.
5) Retzius-Linien waren teils fluoreszent, teils nicht fluoreszent, abhängig davon, ob sie mehr oder weniger stark mineralisiert waren. Die Neonatallinie war oft sehr stark fluoreszent.

Aus diesen wenigen Zitaten ergibt sich, daß eine örtliche Variation der Fluoreszenz in natürlich gewachsenen Rattenschneidezähnen beobachtet wurde, wobei die Unterschiede in der Fluoreszenz unter anderem von der Struktur, vom Alter und der biologischen Vorgeschichte abhingen.

Es war also zu erwarten, daß auch das Fluorid aufgrund seiner substanz- und strukturverändernden Eigenschaften einen Einfluß auf die natürliche Zahnfluoreszenz haben sollte.

3. MATERIAL UND METHODE

3.1. DIE VERSUCHSTIERE UND IHRE ERNÄHRUNG

Für die Untersuchungen standen Zähne der Versuchstiere aus der Dissertation von BONNEKAMP (1977) (9) zur Verfügung. Die folgenden Angaben wurden aus dieser Arbeit entnommen.
Es handelte sich um männliche Albino-Ratten des Stammes Sprague-Dawley[+], die zu Versuchsbeginn 4 Wochen alt waren und durchschnittlich 68,5g wogen. Die Tiere wurden einzeln in Maschendrahtkäfigen bei weitgehend konstanter Raumtemperatur (22°C) und Luftfeuchtigkeit (50 %) gehalten. Wöchentlich wurde die Gewichtszunahme registriert. Zu Versuchsbeginn wurden die Mundhöhlen der Tiere zweimal in mehrtägigem Abstand mit Streptococcus mutans beimpft.

Die Tiere wurden per Zufall in 6 Gruppen aufgeteilt:

Gruppe	Kost	Trinkwasser ad libitum	Magensonde
Kontr. A	Basaldiät	Aqua dest.	Aqua dest.
Kontr. B	2000 S	Aqua dest.	Aqua dest.
I	2000 S	Aqua dest.	Aqua dest. + 25ppm F^-
II	2000 S	Aqua dest.	Aqua dest. + 50ppm F^-
III	2000 S	Aqua dest.	Aqua dest. + 75ppm F^-
IV	2000 S	Aqua dest.	Aqua dest. + 100 ppm F^-

Tabelle 1: Gruppeneinteilung und Ernährung der Ratten (nach BONNEKAMP 1977 (9))

+ SPF-Sprague-Dawley NIH/HAN vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover-Linden

Kontrollgruppe A erhielt eine "fluoridarme" Basaldiät ($\sim$ 4,5 ppm F^-) aus 70 % Haferflocken und 30 % Milchpulver. Die Kontrollgruppe B und die Versuchsgruppen I-IV erhielten eine kariogene Kost, bestehend aus:

Puderzucker	:	56 %
Magermilchpulver	:	28 %
Weizenmehl	:	8 %
Futterhefe	:	5 %
Vitaminmischung	:	2 %
Kochsalz	:	1 %
		100 %

In einem Vorversuch war die tägliche Trinkmenge einer Sprague-Dawley-Ratte in Abhängigkeit vom Lebensalter gemessen worden. So war es möglich, die von den Versuchsgruppen I-IV täglich mit der Magensonde aufzunehmenden Fluoridmengen genau zu berechnen. Diese errechneten Fluoridmengen lagen bei der Versuchsgruppe I bei etwa 4 mg/kg KG, bei der Versuchsgruppe II bei durchschnittlich 8 mg/kg KG, bei der Versuchsgruppe III bei durchschnittlich 12 mg/kg KG und bei Versuchsgruppe IV bei etwa 16 mg/kg KG (KG = Körpergewicht). Sie wurden den Tieren zur gleichen Zeit in 1 ml bzw. ab dem 16. Versuchstag in 2ml Aqua dest. per Magensonde appliziert, den Kontrollgruppen A und B wurde nur Aqua dest. ohne Fluoridzusatz in der angegebenen Weise verabreicht.

Nach 42 Tagen waren die Ratten unter Äthernarkose durch Freilegung der Arteria carotis entblutet worden und anschließend durch Dekapitation getötet worden. Danach waren beide Kiefer entnommen und in 4%iger Formaldehyd-Lösung aufbewahrt worden. Das durchschnittliche Gewicht der Tiere hatte bei der Tötung etwa 250 g betragen, mit Ausnahme der Kontrollgruppe A, deren Durchschnittsgewicht 320 g betragen hatte.

Inwieweit die Lagerung in Formaldehyd-Lösung die Fluoreszenz beeinflußt hat, kann hier nicht entschieden werden, da die Zähne in fixierter Form aus dem Versuch der angegebenen anderen Arbeitsgruppe übernommen worden waren. In der einschlägigen Literatur wurde über den Einfluß der Formaldehyd-Fixierung auf die Zahnfluoreszenz keine Angabe gefunden. Diese Frage sollte ebenso wie ein möglicher Einfluß des Einbettungsmaterials auf die Fluoreszenz bei späteren Untersuchungen ähnlicher Art geklärt werden.

Die wichtigsten, von BONNEKAMP gemessenen Fluoridkonzentrationen sind unten aufgeführt:
Die Fluoridkonzentrationen im Plasma lagen bei den Kontrollgruppen A und B zwischen 0,017 (A) ppm F^- und 0,010 (B)ppm F^-. Bei den Versuchsgruppen ergaben sich deutlich höhere Werte von 0,11 ppm F^- bei Gruppe I, 0,27 ppm F^- bei Gruppe II, 0,47 ppm F^- bei Gruppe III und 0,64 ppm F^- bei Gruppe IV.
Die Fluoridkonzentrationen in der Knochenasche (Femur) lagen bei den Kontrollgruppen bei 268 (A) und 148 (B) ppm F^-. Bei den Versuchsgruppen stiegen die Konzentrationen von 2467 ppm F^- (Gruppe I) über 4201 ppm F^- (Gruppe II) und 5792 ppm F^- (Gruppe III) auf 7528 ppm F^- bei Gruppe IV an.

Die Bestimmung der Fluoridkonzentrationen des Schmelzes wurden an den Rattenmolaren vorgenommen, indem mit Hilfe von Perchlorsäure eine oberflächliche (1. Schicht) und eine darunter liegende Schicht (2. Schicht) aufgelöst wurde und der Fluoridgehalt mittels ionensensitiver Elektrode bestimmt wurde. Dabei lagen die Fluoridkonzentrationen in der 1. Schicht bei den Kontrollgruppen bei 186 (A) und 129 (B) ppm F^- (in der 2. Schicht bei 68 (A) und 53 (B) ppm F^-) und bei den Versuchsgruppen bei 424 ppm F^- (Gruppe I), 527 ppm F^- (Gruppe II), 632 ppm F^- (Gruppe III) und 760 ppm F^- bei Gruppe IV. In der 2. Schicht lagen die Werte um etwa 60 % niedriger: 171 ppm F^- (Gruppe I), 181 ppm F^- (Gruppe II), 215 ppm F^- (Gruppe III), 282 ppm F^- (Gruppe IV).

3.2. PRÄPARATHERSTELLUNG: EINBETTUNG DER ZÄHNE UND SCHNITTHERSTELLUNG

Für die Vorversuche zur Einbettungs- und Präparatherstellungstechnik wurden insgesamt 24 Zähne verwendet. Für die endgültige Auswertung wurden 6 Zähne herangezogen, die in einem Einbettungsblock gemeinsam eingebettet und geschnitten worden waren. Es handelte sich um je einen unteren linken Incisivus aus je einem Unterkiefer je eines Tieres der 6 Versuchsgruppen. Sie wurden nach dem Herauspräparieren mit Zellstoff getrocknet. Die Zähne waren etwa 15mm lang, 1,9mm breit und 1,2mm dick. Die so gewonnenen 6 Schneidezähne mußten dann so eingebettet werden, daß sie alle auf einem Objektträger Platz fanden und beim Schnitt gleichmäßig und alle in gleicher Höhe angeschnitten werden konnten. Zu diesem Zweck wurde gemeinsam mit NEUMEYER (60) folgendes Einbettungs- und Präparationsverfahren entwickelt:

Als Gußform zur Einbettung wurde ein durchsichtiges Polystyrolkästchen (Fa. Licefa) mit den Maßen 52x32x28 mm ausgewählt (Abb. 2). Mit Hilfe einer Schieblehre wurde parallel zum Boden im Abstand von etwa 20 mm in alle 4 Seitenwände je eine Rille geritzt. Diese 4 Rillen bildeten eine zum Kästchenboden parallele Ebene, die die spätere Schnittebene darstellt. Nun wurde in der Mitte des Kästchenbodens eine Bohrung angebracht und eine Schraube mit Hilfe einer Beilagscheibe und einer Mutter so befestigt und justiert, daß die Längsachse der Schraube senkrecht zum Kästchenboden und damit senkrecht zur Schnittebene verlief. Mit dieser Schraube wurde später das Schnittobjekt in die zum Sägeblatt senkrecht stehende Halterung der Schneidemaschine eingespannt, was eine Schnittführung durch die oder parallel zur vorgezeichneten Schnittebene gewährleistete.

Anschließend wurden die 6 Zähne in der Mitte ihrer Mesial-Seite mit Hilfe von Einbettungskunststoff an den Enden von Streichhöl-

zern befestigt und diese 6 Streichhölzer in entsprechende Bohrungen des Kästchendeckels so eingesteckt, daß sie noch bewegt werden konnten. Dann wurde der Deckel auf dem Kästchen mit Wachs fixiert und die Zähne in die Ebene der Rillen einjustiert. Anschließend wurden die Streichhölzer in dieser Stellung mit Wachs fixiert. Durch eine vorher im Deckel angebrachte Bohrung wurde nun das Einbettungsmaterial, es handelte sich um kaltpolymerisierenden farblosen Paladur® [1] Kunststoff (Methylmetacrylat), eingegossen. Das so gefüllte Kästchen, der "Schnittblock" oder "Präparatblock" wurde nun sofort vor dem Aushärten in einen Drucktopf[2] eingebracht und dort unter Wasser 15 Minuten lang bei einem Druck von 2,2 kp/cm^2 (entspr. 22 N/cm^2) zur Verhinderung einer Blasenbildung auspolymerisiert.

Dieser Schnittblock wurde in eine Schneidemaschine[3] mit Diamantinnenlochtrennscheibe[4] eingespannt. Bei einer Dicke der Trennscheibe von 200 µm und einem Schnittverlust von 270 µm wurden 4 Schnitte von etwa 100 µm Dicke erhalten, von denen die beiden mittleren den zentralen Schnitt durch alle Zähne zeigten und somit zur Untersuchung verwendet werden konnten.

---

1) Paladur Kunststoff, farblos, ISO R 1567 Typ 2 Kl. 1, Fa. Kulzer GmbH & Co

2) Drucktopf Polyklav (Ord.-No. 070-000, komplett) der Fa. Dentaurum

3) Schneidemaschine der Fa. Roditi Int. Corp. GmbH, Modell Capco Q-35,modifiziert nach GABRIEL und KLINGER

4) Diamantinnenlochtrennscheibe S 35 C-206-83-0, 22-0, 2-0,1; D 46 S Nr. 4206304 WE 41/WO2

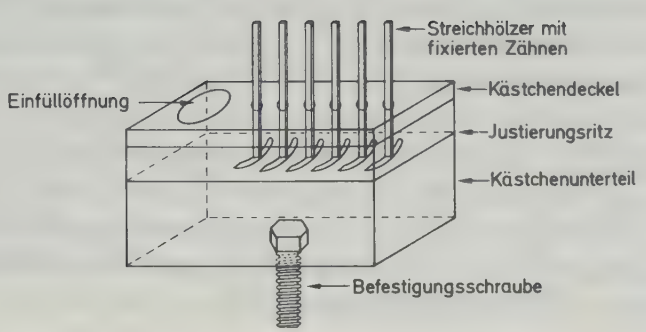


Abb. 2: Schematische Zeichnung des Schnittblockes, mit justierten Zähnen, vorbereitet zum Eingießen des Einbettmittels (nach NEUMEYER und KLINKE. Die in den Abb. 2 und 3 dargestellten Verfahrensweisen zur Einbett-, Schneide- und Meßtechnik wurden gemeinsam mit NEUMEYER (60) entwickelt).

Um eine Beschädigung des nur 100 µm dicken Präparates zu vermeiden und eine bessere Handhabung zu ermöglichen, wurde vor jedem Trennvorgang ein Objektträger auf den Präparatblock geklebt. Da aber unter permanenter Wasserkühlung gesägt wurde, war es wichtig, daß sich der Objektträger nicht durch das Wasser wieder von dem Präparat trennte. Deshalb wurde in einem Vorversuch ein Klebstoff ermittelt, der auch unter längerer Wassereinwirkung die feste Fixation des Schnittes auf dem Objektträger gewährleistete.

Vorversuch: Zur Untersuchung kamen die vorhandenen Klebstoffe Epotek®, Eastman 910®, IS 12®, Uvio-Bond®. Es wurden dünne Plättchen von Paladur® mit jedem der obigen Kleber auf einen Objektträger geklebt, dieser 48 Stunden in Wasser gelagert und dann die Haftfähigkeit untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß die Haftfähigkeit von Uvio-Bond® in jedem Falle ungenügend war, während die Klebefähigkeit von IS 12®, Eastman® und Epotek® auch nach der Wasserlagerung ausreichend war. Wegen der schnellen Abbindezeit fiel die Wahl auf den Cyanoacrylatkleber IS 12®.

Nach dem Schnitt wurden die beiden mittleren Schnitte auf einer Unterlage mit in destilliertem Wasser aufgeschwemmten Aluminiumoxidpulver poliert. Die Korngröße des Aluminiumoxids betrug 1,0 und 0,3 µm. (Weitere Einzelheiten siehe bei NEUMEYER (60)).

3.3. FESTLEGUNG DER MESSFELDER

Nach der Präparatherstellung wurden mit Hilfe eines Ritzhärte-Meßgerätes[1)] bei einer Belastung von 100 p in jedem Zahnschliffpräparat 3 Meßfelder markiert. Eine genaue Begrenzung verschiedener Meßfelder war nötig, um erstens Abschnitte von gleichem biologischem Entwicklungsstand bei verschiedenen Zähnen untersuchen und vergleichen zu können, und um zweitens die parallel laufenden Untersuchungen auf Abrieb und Löslichkeit durch NEUMEYER (60) an den gleichen Stellen der Präparate zu gewährleisten. Jedes der 3 Meßfelder eines Zahnes war 1 mm lang und hatte zum nächsten Feld ebenfalls einen Abstand von 1 mm (siehe Abb. 3). Das erste Meßfeld (M 1) begann an dem Übergang der Anschliffläche zum lingualen Dentinanteil und lag folglich bei der Ratte völlig in der Mundhöhle. Das zweite Meßfeld (M 2) begann 2 mm apikalwärts und lag damit

1) Durimet IC der Fa. E. Leitz, Wetzlar

schon im Bereich der Zahnfleischtasche, während das dritte Meßfeld (M 3), wieder 2 mm weiter apikalwärts, nicht mehr dem Speichel der Mundhöhle ausgesetzt gewesen war.

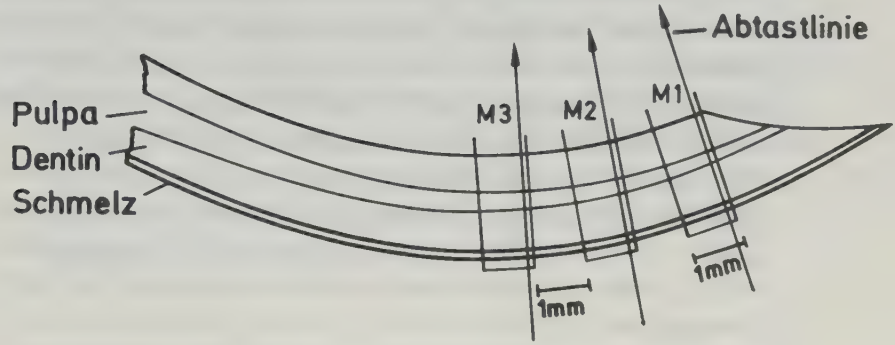


Abb. 3: Die Meßfelder (M 1, M2, M3) am paramedianen Längsschnitt eines Rattenincisiven (UK). Die Messung erfolgt in jedem Meßfeld entlang der eingezeichneten Abtastlinien. In jedem Meßfeld wurden 19 Kurven im Abstand von je 50 µm gemessen. Beginn der Abtastlinien jeweils wie durch Pfeile angegeben, fortlaufend vom incisalen zum apikalen Ende.

3.4. DIE MESSUNG DER FLUORESZENZ-INTENSITÄT

3.4.1. Grundlagen der Fluoreszenzanregung und Fluoreszenzemission

Wird eine Substanz mit kurzwelligem Licht bestrahlt und reagiert diese Substanz daraufhin mit der Abstrahlung von längerwelligem Licht, so nennt man diese Erscheinung Lumineszenz. Es kann sich dabei sowohl um ein Mitleuchten (Fluoreszenz) handeln, d.h., die Abstrahlung endet mit dem Ende der Bestrahlung, oder um ein Nachleuchten (Phosphoreszenz), d.h., die Substanz leuchtet noch, obwohl keine anregende Strahlung mehr vorhanden ist. Dies ist der Inhalt dieser Begriffe, wie sie in der hier erfaßten Literatur in der Regel gebraucht werden. Dabei muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die klare Trennung der Begriffe vor allem in der älteren Literatur nicht immer vorgenommen wird. Die Feststellung, wann ein Nachleuchten nach dem Abschalten des Erregerlichtes noch vorhanden ist und somit eine Phosphoreszenz vorliegt, hängt zudem von der benutzten Meßtechnik ab.

Auf die physikalischen Grundlagen der Entstehung von Fluoreszenzstrahlung soll hier nicht näher eingegangen werden. Hierzu muß auf die einschlägige physikalische Fachliteratur sowie auf zusammenfassende Arbeiten über Mikroskop-Photometrie hingewiesen werden (z.B. PILLER 1977 (65) und dort zitierte Literatur). Eine stark vereinfachte und hier gekürzt wiedergegebene Darstellung der Entstehung von Fluoreszenzstrahlung sei der Arbeit von McDEVITT (55) entnommen: Die eingestrahlte kurzwellige elektromagnetische Strahlung wird absorbiert und bringt das Molekül von einem niedrigen in einen höheren Energiezustand, d.h., ein Elektron wird vom Energieniveau A auf das höhere Energieniveau B befördert. Hierbei können verschiedene Energieniveaus erreicht werden. Der Unterschied zwischen dem Grund-Energie-Zustand und dem angeregten Energie-Zustand entspricht der Wellenlänge des anregenden Lichtes. Um nun diese aufgenommene Licht-Energie zu emittieren, muß das Elektron wieder vom Energieniveau B auf das tiefere Energieniveau A zurückfallen. Dieser Rück-

fall des Elektrons erfolgt aber nicht von demselben Punkt der Energiekurve des Energieniveaus B, sondern, da das Molekül durch Molekularkollisionen Energie verloren hat, von einem energetisch tieferen Punkt der Energiekurve des Energieniveaus B unter Aussendung eines Photons. Diese Energiedifferenz ist demnach kleiner als bei der Anregung des Elektrons und folglich ist, da die Wellenlänge des Lichtes umgekehrt proportional zu seiner Energie ist, die Wellenlänge des ausgesandten Photons länger als die der absorbierten Strahlung. Da die Energieniveau-Unterschiede in der chemischen Natur der fluoreszierenden Substanz festgelegt sind, bestimmt die fluoreszierende Substanz die Wellenlängen, die absorbiert und emittiert werden können. Somit ist ein 'Fluorophor' durch ein bestimmtes Absorptions- und Emissions-Spektrum gekennzeichnet.

3.4.2. Meßapparatur und Durchführung der Messung

Die Fluoreszenz-Messungen wurden mit einem Fluoreszenz-Mikroskopphotometer[1] (Abb. 5) durchgeführt. Die Anregung der Fluoreszenz erfolgte im Auflicht mit Hilfe einer Quecksilberhöchstdrucklampe[2] im Wellenlängenbereich von 435 nm bis 490 nm. Das anregende Licht wurde dabei jeweils nur auf das Meßfeld und seine unmittelbare Umgebung fokussiert. Die emittierte Strahlung wurde im Wellenlängenbereich 520nm mittels eines Sekundärelektronenvervielfachers in einem quadratischen Meßfeld von 14 x 14 µm Größe gemessen und die Meßwerte mit einer Ziffernanzeigeeinheit digital in Millivolt (mV) angezeigt. Dabei ergaben sich am Ausgang des Verstärkers Photometerspannungen von 0 - 215 mV. Außerdem wurde mittels eines motorgetriebenen Scanning-Tisches die Fluoreszenz-Intensität linienförmig parallel zu den Begrenzungslinien des Meßfeldes abgetastet, wie es

---

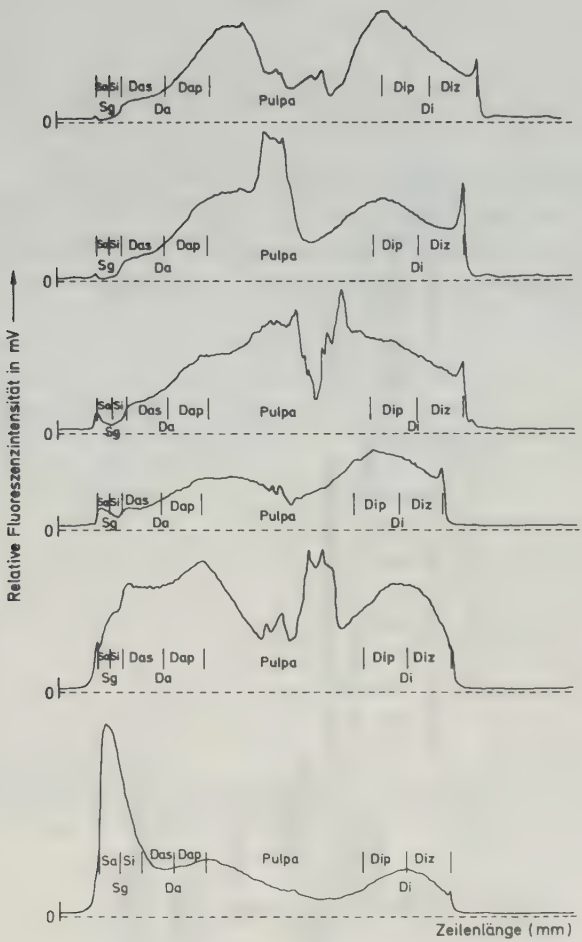
1) Typ 01 der Fa. Carl Zeiss, Oberkochen

2) HBO 100 W/2, Fa. Osram

in Abb. 3 dargestellt ist. Bei einem Abstand der Meßspuren von 50 µm ergaben sich bei einer Meßfeldbreite von 1 mm unter Auslassung der ersten und letzten Meßlinie 19 Meßlinien pro Meßfeld, also in den 3 Meßfeldern eines Zahnes 57 Meßlinien, die durch einen xy-Schreiber auf Millimeterpapier registriert wurden. Die zeitliche Konstanz der Apparatur wurde mit einem Fluoreszenzglas-Eichstandard überprüft. [1)]

Die Meßwertanzeige ist linear proportional der Fluoreszenz-Intensität. Dies ist aufgrund der Meßanordnung gegeben (Konstanz der Geometrie, Messungen im Linearitätsbereich des Photomultipliers, Kontrolle mit Eichstandard).

1) Typ GG 17, 155, Fa. Schott, Mainz



Kontrolltier A
15. Kurve

Kontrolltier B
7. Kurve

Versuchstier I
18. Kurve

Versuchstier II
4. Kurve

Versuchstier III
6. Kurve

Versuchstier IV
11. Kurve

Abb. 4: 6 charakteristische Fluoreszenzemissionskurven aus dem Meßfeld 1. Es wurde jeweils eine charakteristische Kurve aus den in jedem Meßfeld insgesamt gemessenen 19 Kurven ausgewählt. Die Nummer der jeweils ausgewählten Kurve ist angegeben, die Zählung beginnt am incisalen Ende des Meßfeldes (siehe auch Abb. 3).

Es bedeuten:

Sg	:	Gesamter Schmelz
Sa	:	Äußere Schmelzhälfte
Si	:	Innere Schmelzhälfte
Da	:	Äußeres Dentin
Das	:	Äußeres schmelznahes Dentin
Dap	:	Äußeres pulpennahes Dentin
Di	:	Inneres Dentin
Dip	:	Inneres pulpennahes Dentin
Diz	:	Inneres zungennahes Dentin

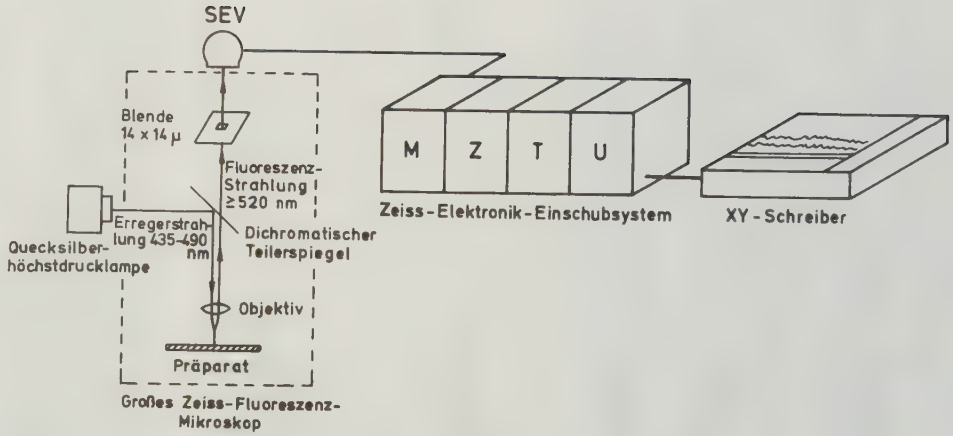


Abb. 5: . Schematischer Aufbau der Meßapparatur.
Es bedeuten: M - Meßverstärker mit Netzeinheit für Photomultiplier
Z - Dezimale Ziffernanzeigeeinheit
T - Digitale Tischsteuereinheit mit Fernbedienungspult
U - Umcodiereinheit

3.4.3. Auswertung der Meßkurven

Die Amplituden der Meßkurven geben die relative Fluoreszenz-Intensität in mV entlang der Meßspur über den Zahnquerschnitt wieder. Zur Auswertung der einzelnen Kurven wurden diese in verschiedene Abschnitte aufgeteilt, die durch die Zahnstruktur definiert werden (Abb. 6).

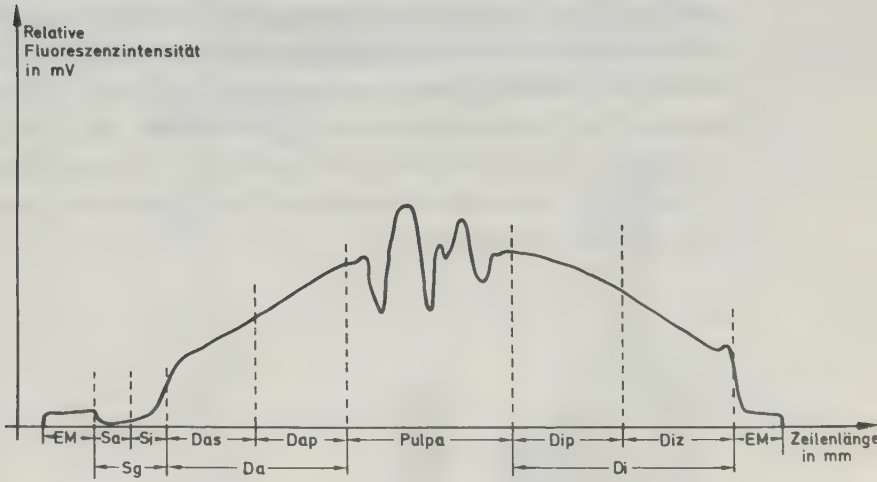


Abb. 6: Darstellung einer Meßkurve aus dem Meßfeld 1 des Kontrolltieres A (schematisch).
Die Abkürzungen kennzeichnen folgende zugeordnete Zahnbereiche bzw. nach der Auswertung der Kurven ihre jeweilige mittlere Fluoreszenz-Intensität:

Sg : Gesamter Schmelz
Sa : Äußere Schmelzhälfte
Si : Innere Schmelzhälfte
Da : Äußeres Dentin
Das : Äußeres schmelznahes Dentin
Dap : Äußeres pulpennahes Dentin
Di : Inneres Dentin
Dip : Inneres pulpennahes Dentin
Diz : Inneres zungennahes Dentin
Dg : Gesamtes Dentin (Da + Di)
EM : Einbettmittel

Durch Planimetrieren wurde die mittlere Fläche unter jedem so festgelegten Abschnitt der Meßkurve bestimmt und daraus die mittlere Fluoreszenz-Intensität in dem jeweiligen Kurvenabschnitt des betreffenden Meßfeldes berechnet. Das Nullniveau ist dabei durch die Amplitude bei abgedeckter Photometerblende gegeben. Die Meßwerte in der Pulpa wurden bei allen Auswertungen nicht berücksichtigt. Zur Auswertung wurden wegen der guten Übereinstimmung der jeweils 19 Kurven innerhalb eines Meßfeldes insgesamt 5 Kurven in gleichmäßigem Abstand ausgewählt, und zwar wurde jeweils mit der zweiten Kurve begonnen und jede vierte Kurve ausgewertet, wenn sie nicht infolge eines eindeutigen Artefakts (Kratzer oder Riß) unauswertbar war. In diesem Fall wurde die nächstfolgende Kurve ausgewertet. Von den so erhaltenen 5 Kurven in jedem Abschnitt jedes Meßfeldes wurden die Mittelwerte gebildet, wenn in den nachstehenden Abschnitten keine andere Auswertungsweise angegeben ist.

4. ERGEBNISSE

4.1. DIE GESAMTFLUORESZENZ-INTENSITÄT DER ZÄHNE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER FLUORID-GABE

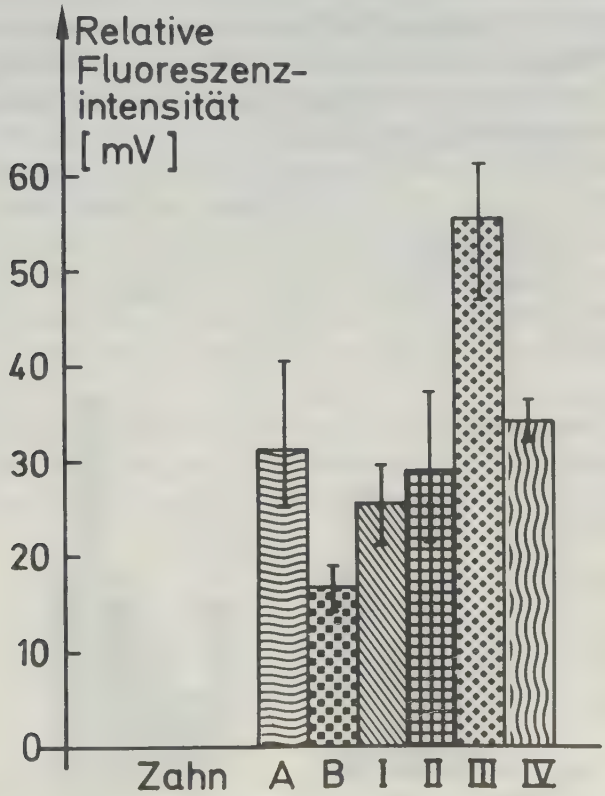


Abb. 7: Die 'Gesamtfluoreszenz' der Zähne als Mittelwert aus den 3 Meßfeldern. Die Fehlerbalken geben die Spannweiten $R=X_{max}- X_{min}$ an und nicht wie üblich die Standardabweichung. Dies gilt für alle Stabdiagramme dieser Arbeit. Die 'Gesamtfluoreszenz' wurde, in Abweichung von dem in Kapitel 3.4.3. beschriebenen Auswertungsvorgang, bestimmt, indem die mittlere Höhe der gesamten Kurve durch Planimetrieren ermittelt wurde.

Betrachtet man die 'Gesamtfluoreszenz' aller Zähne, wie in Abb. 7 angegeben, so scheint ein kontinuierlicher Anstieg der Fluoreszenz-Intensität von dem Kontrolltier B bis zu dem mit 75 ppm F^--dotierten Tier deutlich zu sein. Dieser Anstieg ist bei einer genaueren Analyse z. B. der Fluoreszenz-Intensität im Schmelz wesentlich klarer erkennbar (siehe Abb. 11). Nicht in diese Tendenz scheinen das Kontrolltier A und das mit 100 ppm F^--dotierte Tier zu passen.

Die Verteilung der 'Gesamtfluoreszenz' der Zähne auf die einzelnen Meßfelder innerhalb der Zähne zeigt das Stabdiagramm der Abb. 8. Die Tendenz in den einzelnen Meßfeldern stimmt mit der Tendenz der 'Gesamtfluoreszenz' überein.

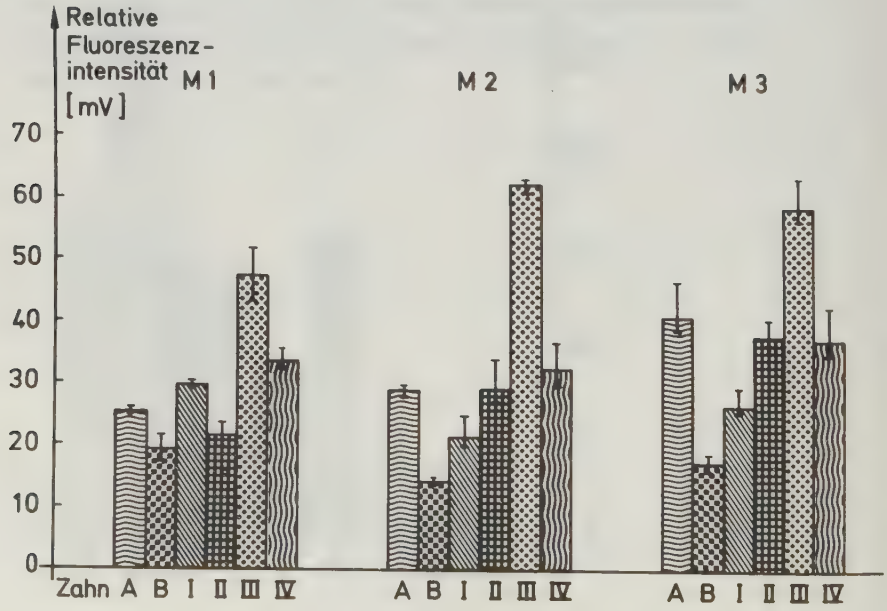


Abb. 8: Die Gesamtfluoreszenz der Zähne in den verschiedenen Meßfeldern. Jede Säule gibt den Mittelwert der Fläche von 5 (aus insgesamt 19) im betreffenden Meßfeld gemessenen Fluoreszenzintensitätskurven wieder (Da + Di + Sa + Si, siehe Abb. 6). Wegen der geringen Anzahl der benut zten Meßwerte wurde anstelle der Standardabweichung vom Mittelwert die maximale Spannweite der 5 Werte eingetragen.

4.2. UNTERSCHIEDE IN DER FLUORESZENZ DER VERSCHIEDENEN ZAHNSTRUKTUREN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER FLUORID-GABE

4.2.1. Vergleich von Schmelz und Dentin (siehe Abb. 9).

Beim Vergleich der einzelnen Meßfelder ist festzustellen, daß bei den beiden Kontrolltieren und dem Versuchstier I die Fluoreszenz des Dentins in allen 3 Meßfeldern wesentlich größer ist als die des Schmelzes. Bei dem Versuchstier II überschreitet im Meßfeld 3 die Schmelzfluoreszenz die Dentinfluoreszenz, bei Versuchstier III übertrifft die Schmelzfluoreszenz in Meßfeld 3 und Meßfeld 2 die des Dentins und beim Versuchstier IV ist schließlich die Intensität der Schmelzfluoreszenz in allen 3 Meßfeldern wesentlich größer als die Dentinfluoreszenz. Weder im Schmelz noch im Dentin ist im Vergleich der 3 Meßfelder eines Zahnes eine übereinstimmende Fluoreszenzverteilung festzustellen.

Aus der Abb. 10 ist zu erkennen, daß in jedem Zahnbereich, also innerhalb jedes Meßfeldes, mit zunehmender Fluoridierung die Fluoreszenz zunimmt. Dies ist besonders deutlich für den Schmelz zu erkennen.

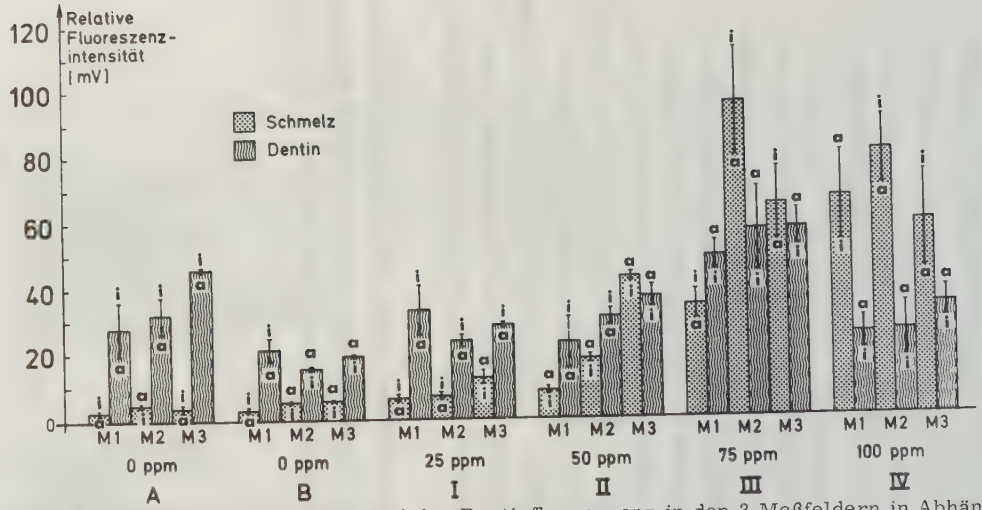


Abb. 9: Die Intensität der Schmelzfluoreszenz und der Dentinfluoreszenz in den 3 Meßfeldern in Abhängigkeit von der Fluoridgabe

Die Säulen geben die mittlere Fluoreszenz-Intensität von Schmelz und Dentin an. Diese mittleren Fluoreszenz-Intensitäten wurden aus den in den Abbildungen 11 und 12 berechneten Mittelwerten für die mittleren Fluoreszenz-Intensitäten jeweils der äußeren und inneren Bereiche von Schmelz und Dentin ermittelt. Die Enden der eingezeichneten Schwankungsbalken markieren die Mittelwerte der Fluoreszenz jeweils in den äußeren und in den inneren Bereichen, die aus jeweils 5 von insgesamt 19 an jedem Zahnschliff gemessenen Kurven berechnet wurden. Die Länge der Säulen ist gegeben durch den Mittelwert, der aus diesen beiden Mittelwerten für den äußeren und den inneren Bereich gebildet wurde. (Die Schwankungsbalken geben also nicht die Schwankung dieses Mittelwertes an!). Diese Art der Darstellung ist hier zweckmäßig, da man auf diese Weise sichtbar machen kann, ob jeweils der innere oder der äußere Bereich von Schmelz bzw. Dentin die höhere mittlere Intensität aufweist (Index a = äußerer Bereich, Index i = innerer Bereich, siehe Abb. 11). Die Darstellung ist zulässig, da die Schwankungsbreite der Mittelwerte von Da, Di, Sa und Si aufgrund der sehr guten Übereinstimmung der 19 Kurven innerhalb jedes Meßfeldes M_1 bis M_3 bei allen Zähnen sehr klein ist gegenüber der Differenz der Mittelwerte |Da-Di| und |Sa-Si| .

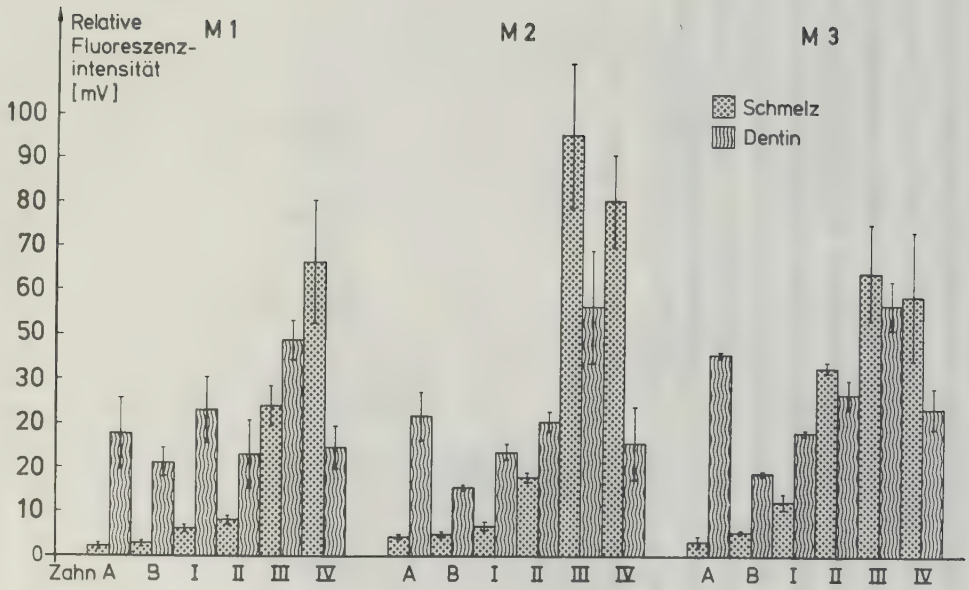


Abb. 10: Die Intensität der Schmelzfluoreszenz und der Dentinfluoreszenz in den einzelnen Meßfeldern in Abhängigkeit von der Fluoridgabe
Zur Berechnung und Bedeutung der Balken und der eingezeichneten Schwankungen siehe Abb. 9.

4.2.2. Vergleich von äußerer und innerer Schmelzhälfte

Das Stabdiagramm der Abb. 11 zeigt beim Vergleich von Kontrolltieren und Versuchstieren den erheblichen Fluoreszenzzuwachs im Schmelz der mit Fluorid dotierten Tiere. Der Anstieg ist in der äußeren und inneren Schmelzhälfte gleichsinnig mit der Fluoridzufuhr der Tiere, nur in der inneren Schmelzhälfte ist im Gegensatz zur äußeren Schmelzhälfte ein leichter Abfall von Versuchstier III zu Versuchstier IV sichtbar. Die Fluoreszenz-Intensität steigt von einer durchschnittlichen Fluoreszenz der Kontrolltiere A und B von 5,5 mV auf durchschnittlich 103 mV beim Versuchstier IV an, was einen Fluoreszenzanstieg um das etwa 18fache bedeutet!
Eine eindeutige Bevorzugung der äußeren oder inneren Schmelzhälfte kann nicht festgestellt werden.

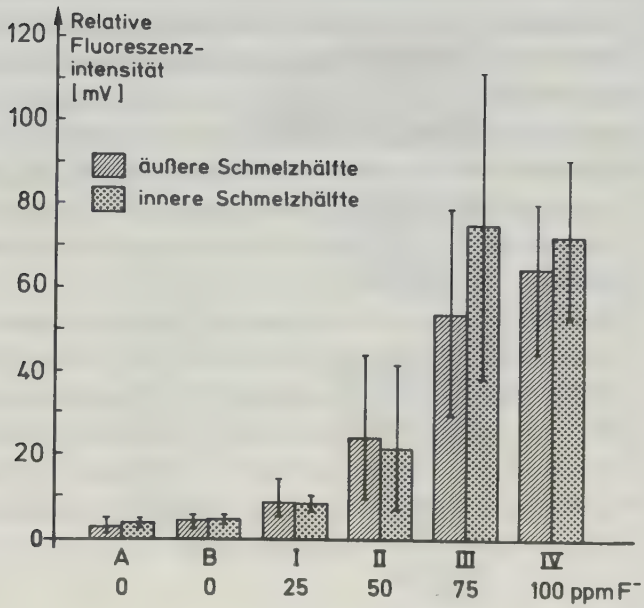


Abb. 11: Die Intensität der Fluoreszenz der inneren und äußeren Schmelzhälfte in den einzelnen Zähnen.
(Jede Säule gibt den Mittelwert der 3 Meßfelder wieder)

4.2.3. Vergleich von pulpennahem und pulpenfernem Dentin

Aus Abb. 12 läßt sich der Fluoreszenzverlauf über den ganzen Zahndurchmesser der verschieden fluoridierten Zähne beurteilen.

Es fällt auf, daß die Dentinabschnitte, die an die Zahnpulpa angrenzen (Dap und Dip), eine höhere Fluoreszenz zeigen als die Dentinabschnitte, die nicht an die Pulpa grenzen (Das und Diz). Nur bei den Versuchstieren III und IV übersteigt die Fluoreszenz des schmelznahen Dentinabschnittes (Das) die anderen Dentinabschnitte. Ein Grund für diese erhöhte Fluoreszenz des schmelznahen Dentinabschnittes könnte in der bei diesen beiden Versuchstieren sehr hohen Schmelzfluoreszenz liegen, die vielleicht in diese schmelznahe Dentinschicht einstrahlt und so meßtechnisch hier eine erhöhte Fluoreszenz vortäuscht.

Bei den beiden Kontrolltieren liegen die Werte der Dentinfluoreszenz zwischen minimal 17 mV und maximal 69 mV, während bei den Versuchstieren diese Werte von minimal 22 mV bis maximal 81 mV reichen, wenn man die beiden hohen Dentinwerte (Das und Dap) des Versuchstieres III außer Betracht läßt. Im Gegensatz zur Schmelzfluoreszenz ist im Dentin also keine merkliche Erhöhung der Fluoreszenz bei zunehmender Fluoridierung festzustellen.

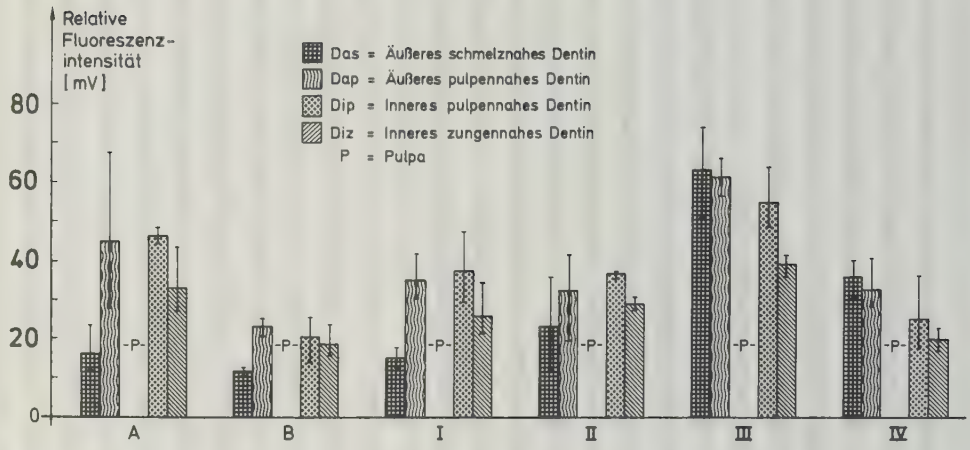


Abb. 12: Vergleich der Fluoreszenz der einzelnen Dentinbereiche
Wegen der guten Übereinstimmung der in jedem Meßfeld M_1 bis M_3 gemessenen 19 Kurven wurden die Mittelwerte für jede Säule aus insgesamt 5 in gleichmäßigem Abstand entnommenen Kurven ermittelt. Die durch die Fehlerbalken angezeigte Spannweite gibt die maximale und nicht die mittlere Schwankung dieser Werte an. (Die Werte für die Pulpa wurden nicht bestimmt.)

5. DISKUSSION

5.1. DIE GESAMTFLUORESZENZ DER ZÄHNE

Die Ergebnisse der Messung der Gesamtfluoreszenz der Zähne zeigen, daß mit unterschiedlicher Fluorid-Dotierung der Versuchstiere sich auch eine Änderung der Fluoreszenz-Emission vollzieht, und zwar in der Richtung, daß mit steigender Fluorid-Gabe auch eine eindeutige Steigerung der Fluoreszenzemission im Wellenlängenbereich größer als 520 nm nachzuweisen ist.

Auffallend ist dabei der Unterschied der Fluoreszenz-Intensität bei den beiden Kontrolltieren (Mittelwerte 31,3 mV zu 16,7 mV relative Fluoreszenz-Intensität, siehe Abb. 7). Es handelt sich hierbei entweder um einen Zufallsbefund, wie er bei nur einem Versuchstier pro Gruppe leicht eintreten kann, oder die Ursache liegt in der unterschiedlichen Ernährung der beiden Kontrolltiere (siehe 3.1.). Da zudem zwar der Fluoridgehalt des Trinkwassers, nicht aber der Fluoridgehalt der Nahrung des Kontrolltieres B bekannt ist, kann eine Erklärung hierfür zunächst nicht gegeben werden. Bemerkenswert ist aber die Tatsache, daß die Fluoreszenz-Intensität bei Kontrolltier A, dessen Kost etwa 4,5 ppm F^- enthielt, in der Größenordnung der beiden Versuchstiere I und II liegt, die mit 25 bzw. 50 ppm F^- angereichertes Trinkwasser mit der Magensonde verabreicht bekamen. Nur durch die Versuchstiere III und IV wird die Fluoreszenz des Kontrolltieres A übertroffen. Eine Erklärung kann hierfür ebenfalls zunächst nicht gegeben werden. Aus den Fluoridgehaltsbestimmungen von BONNEKAMP in Plasma, Femura und Schmelz der Versuchstiere kann aber geschlossen werden, daß der Fluoridgehalt der Diät 2000 S geringer gewesen sein dürfte als der Fluoridgehalt der Basaldiät. Mit dieser Annahme ließe sich die geringere Fluoreszenzintensität der Zähne der Kontrollgruppe B gegenüber den Zähnen der Kontrollgruppe A erklären (siehe hierzu Abschnitt 3.1.).

Weiter ist aus den Abbildungen 5 und 6 festzustellen, daß die Schwankungen der Fluoreszenz-Intensität innerhalb der untersuchten Meßfelder eines Zahnes wesentlich kleiner sind als die Schwankungen zwischen den mit unterschiedlicher Fluorid-Dosierung aufgewachsenen Zähnen. Dies läßt die Feststellung zu, daß in den untersuchten Zahnabschnitten (M_1, M_2, M_3) grundsätzlich die Höhe der Fluoreszenz-Intensität in gewissen Grenzen gleich ist. Es ist also unter diesen Untersuchungsbedingungen keine Tendenz der Fluoreszenz-Intensitäts-Zunahme innerhalb eines Zahnes von M_3 nach M_1, wie es HALS schon 1953 (26) beschrieb, oder umgekehrt, festzustellen. Dieser Befund ist insofern interessant, als sich der apicale und der incisale Bereich eines Zahnes bezüglich des Reifungsgrades und somit bezüglich des Verhältnisses organischer zu anorganischer Substanz unterscheiden und somit auch aus diesem Grund ein Unterschied in der Fluoreszenz-Intensität erwartet werden sollte. Es besteht naturlich auch die Möglichkeit, daß die Meßfelder bei der vorliegenden Arbeit zu dicht beeinander gewählt wurden, so daß der von HALS beschriebene Effekt bei diesen Untersuchungsbedingungen nicht beobachtet werden konnte.

5.2. UNTERSCHIEDE IN DER FLUORESZENZ ZWISCHEN SCHMELZ UND DENTIN

Anhand der Abbildungen 9 und 10 sind die Unterschiede in der Schmelz- und Dentinfluoreszenz beurteilbar. Es zeigt sich, daß der Einfluß des Fluorids auf die Fluoreszenz des Schmelzes erheblich größer ist als auf die des Dentins. Es treten also durch Fluorid nicht nur die bekannten Veränderungen des Schmelzmaterials auf, wie kreidiges Aussehen, verminderte Säurelöslichkeit (SAUERWEIN 1974, (70)), verminderter Widerstand gegen mechanische Belastungen (SHUPE + ALTHER 1966 (73)), sondern offenbar, korrespondierend zu den eben genannten Veränderungen, auch eine starke Erhöhung der Fluoreszenz-Emission, die sich hauptsächlich im Schmelz manifestiert.

Dies wirft die Frage auf, weshalb die Fluoridwirkung auf die Fluoreszenzeigenschaften sich gerade im Schmelz so stark auswirkt und im Dentin wesentlich geringer. Der Grund hierfür ist sehr wahrscheinlich darin zu suchen, daß der Schmelz sehr viel stärker als das Dentin mineralisiert wird und das Fluorid bei diesem Mineralisationsprozeß mitwirkt. Während das Fluorid in kleinen Dosen den Hydroxylapatit so verändert, daß durch Substitution von OH-Gruppen des Hydroxylapatites eine stabile, kristallgittergebundene Fluoreinlagerung entsteht (MÜHLEMANN 1967 (58) (59)), bewirken größere, systemisch applizierte Fluorid-Dosen oberhalb 25ppm F^- eine radikale Beeinträchtigung des Schmelzbildungs- bzw. Schmelzreifungsprozesses (Dentalfluorose) (SHINODA 1975 (74)). In einer größeren Anzahl wissenschaftlicher Arbeiten (z.B. McCLURE 1941 (54); McCANN 1955 (53); ROBERTS 1961 (69); REGOLATI 1974 (67); LARSON 1976 (45)) wurde bisher versucht, den genauen Mechanismus der Fluoridwirkung aufzuklären: liegt er in einer Verhinderung der Rückbildung der organischen Grundsubstanz (SHINODA 1975 (74)), oder werden die Ameloblasten so beeinflußt, daß zu wenig Mineralsubstanz in die organische Grundsubstanz eingelagert wird, oder tritt etwa eine derartige Veränderung der organischen Substanz ein, daß das präformierende organische Netzwerk für die Kristalleinlagerung so beeinflußt wird, daß keine oder nur eine geringe Mineralisation möglich wird? Mit diesen Fragen muß erneut die Frage nach dem Fluorophor gestellt werden.

Da, wie oben festgestellt, im Schmelz die Wirkung des Fluorids auf das Fluoreszenzverhalten besonders deutlich ist, läßt dies darauf schließen, daß die Ursache der Fluoreszenz wohl eher in der Mineralphase zu suchen ist. Läge die Ursache der Fluoreszenz hauptsächlich in der organischen Matrix, so sollte man annehmen, daß die Dentinfluoreszenz der Schmelzfluoreszenz mindestens ebenbürtig sei. Dies ist aber keineswegs der Fall. Außerdem läßt die Verteilung der Indices für den äußeren und inneren Bereich des jeweiligen Zahnmaterials keine Bevorzugung eines äußeren oder inneren Zahnmaterialbereichs erkennen (siehe Abb. 9).

5.3. UNTERSCHIEDE IN DER FLUORESZENZ ZWISCHEN ÄUSSERER UND INNERER SCHMELZHÄLFTE

Abbildung 11 zeigt die Unterschiede der Fluoreszenz zwischen äußerem und innerem Schmelzbereich. Hier ist wie in Abb. 9 und 10 die deutliche Steigerung der Fluoreszenz-Intensität zu beobachten, die sich über die ganze Schmelzdicke erstreckt. In der inneren und äußeren Schmelzhälfte ist dabei der Intensitätsanstieg etwa gleich. Sinn dieser Gegenüberstellung von innerer und äußerer Schmelzhälfte war es, herauszufinden, ob es einen Unterschied in der Stärke der Fluoreszenz zwischen dem später mineralisierten Schmelz (außen) und dem zuerst mineralisierten (innen) gibt. Dabei ist die Tatsache zu beachten, daß der Schmelzaufbau im äußeren Drittel anders geartet ist als in den beiden inneren Dritteln (siehe Kap. 2.1.). Aus dem Vergleich der Meßwerte ist ersichtlich, daß in der Regel die Fluoreszenz-Intensität der inneren Schmelzhälfte höher liegt als die der äußeren (bei Kontrolltier B und Versuchstier I sind beide etwa gleich hoch, während bei Versuchstier II die Fluoreszenz-Intensität des inneren Schmelzes etwas gegenüber dem äußeren abfällt). Dies bedeutet, daß die Fluoridwirkung also überall im Schmelz stattgefunden hat, was ihren Einfluß auf die Fluoreszenz angeht. Im Widerspruch hierzu berichtet HALS (26), daß die zuletzt mineralisierten Anteile am stärksten fluoreszieren (das ist die äußere Schmelzhälfte), während zum Beispiel der innere Schmelz überhaupt nicht fluoresziert. Die höhere Fluoreszenz-Intensität der inneren Schicht könnte aber auch begründet sein in der gegenüber der äußeren Hälfte unterschiedlichen Struktur, und zwar in dem Sinne, daß entlang der Schmelzprismen Lichtleiter-Effekte auftreten, wie dies z.B. von v. KOENIGSWALD diskutiert wird (v. KOENIGSWALD 1979 (41), 1980 (42)).

5.4. UNTERSCHIEDE IN DER FLUORESZENZ ZWISCHEN PULPENNAHEM UND PULPENFERNEM DENTIN

Sinn der Gegenüberstellung von pulpennahen und pulpenfernen Dentinabschnitten (siehe Abb. 12) war es, auch hier eine Zuordnung der Fluoreszenz zu jüngerem oder älterem Dentin möglich zu machen. Dies ist insofern gelungen, als daß die der Pulpa benachbarten Dentinabschnitte immer eine, zum Teil sehr deutliche, höhere Fluoreszenz als die älteren, außen liegenden Dentinabschnitte aufweisen. Dabei wird berücksichtigt, daß die hohe Fluoreszenz des schmelznahen Dentins mit großer Sicherheit durch Überstrahlung der anliegenden sehr hohen Schmelzfluoreszenz beeinflußt wird.

Berücksichtigt man die Tatsache, daß die stärker mineralisierten, älteren Dentinanteile pulpafern liegen und gemäß obigem Stabdiagramm geringer fluoreszieren, drängt sich der Schluß auf, daß im Dentin der anorganischen Phase die entscheidende Bedeutung für die Fluoreszenz zukommt. Eine deutliche Fluoridwirkung in Abhängigkeit von der Dosis, wie sie im Schmelz festzustellen ist, manifestiert sich im Dentin nicht.

5.5. KRITIK UND VERBESSERUNGSVORSCHLÄGE

Die im Vorausgegangenen beschriebene Methode zur Herstellung, Untersuchung und Auswertung von Dünnschnittpräparaten hat gezeigt, daß durch die Messung der Fluoreszenzanregung ein bisher nicht berücksichtigter Parameter zur Quantifizierung der Wirkung systemischer Fluoridapplikationen erhalten werden kann. Eine Korrelation mit anderen Hartgewebseigenschaften (wie z.B. Härte, Löslichkeit, Struktur und chemischer Aufbau) erscheint somit möglich und sinnvoll, wie aus einigen in der Literaturübersicht zitierten Arbeiten hervorgeht. Dieses Problem überschreitet aber den Rahmen der vor-

liegenden Arbeit.

Das Verfahren sollte in einigen Punkten verbessert werden, um jegliche systematische und zufällige Fehler auszuschalten. Folgende Fragen sollten in weiterführenden Arbeiten unbedingt untersucht werden:

1) Hat die Fixierung der Zähne in Formaldehyd-Lösung einen Einfluß auf die Fluoreszenz? Wenn ja, sollten andere Fixierungsmittel erprobt werden (siehe auch Abschnitt 3.1.).
2) Hat die Schichtdicke der Dünnschnittpräparate einen Einfluß auf die Fluoreszenz? Ist dies der Fall, sollte versucht werden, eine bessere Konstanz der Präparatdicke zu erhalten. Dabei sollte vielleicht von der Naßpolitur auf eine Trockenpolitur übergegangen werden, damit es nicht zu größerem unterschiedlichem Abrieb während der Politur kommt, oder kann gänzlich auf eine Politur verzichtet werden?
3) Hat das Poliermittel Al_2O_3 selbst einen Einfluß auf die Fluoreszenz (Einreiben von Al_2O_3-Pulver in das Präparat)?
4) Wie wirkt sich das Einbettmittel auf die Fluoreszenz aus? Kommt es zu einem Eindringen des Methylmetacrylates in den Zahn?
5) Inwieweit kommt es bei längerer Belichtung zu einem reversiblen oder irreversiblen Ausbleichen des Fluorophors?
6) Inwieweit beeinflussen Lichtleitereffekte eventuell die Ergebnisse?
7) Wie wirkt sich eine Decalcifizierung auf die Fluoreszenz der verschiedenen Zahnbereiche aus?
8) Es sollten Untersuchungen mit anderen Wellenlängenbereichen der Anregungs- und Fluoreszenzstrahlung durchgeführt werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der Arbeit wird die Entwicklung, Anwendung und Erprobung einer Methode zur Untersuchung der natürlichen Fluoreszenz von Rattenschneidezähnen, die unter dem Einfluß von unterschiedlich fluoridiertem Trinkwasser gewachsen sind, beschrieben.

Aus einer früheren Versuchsreihe standen Zähne verschiedener Versuchsgruppen von SPF-Sprague-Dawley Ratten zur Verfügung. Zusätzlich zu ihrer Nahrung hatten 6 Versuchstiergruppen 42 Tage lang mit der Magensonde ihre normale Trinkwassermenge welche jeweils 0 ppm F^-, 0 ppm F^-, 25 ppm F^-, 50 ppm F^-, 75 ppm F^- oder 100 ppm F^- enthielt, erhalten. Von den fixierten Unterkiefern dieser Tiere wurden 30 Schneidezähne entnommen. Sechs dieser Zähne wurden in je einem apikalen, einem mittleren und einem incisalen Meßfeld untersucht.

Die Gesamtfluoreszenz der Zähne zeigt eine merkliche Erhöhung der Fluoreszenz-Intensität bei steigender Fluoridgabe, wobei bei 75 ppm F^- das Maximum erreicht wird. Bei den beiden Tieren ohne Fluoridgabe ist die Fluoreszenz-Intensität des Dentins wesentlich größer als die des Schmelzes. Mit steigender Fluoridgabe nimmt die Schmelzfluoreszenz zu. Sie erreicht ein Maximum bei dem Tier mit 100 ppm F^-, bei dem der Schmelz mehr als doppelt so stark fluoresziert als das Dentin. Es kann keine Zu- oder Abnahme der Fluoreszenz-Intensität vom apikalen zum incisalen Meßfeld festgestellt werden. Die Fluoreszenz-Intensität des Schmelzes bei 100 ppm F^- ist etwa 18mal so stark wie bei 0 ppm F^-. Es läßt sich der Trend erkennen, daß die der Pulpa anliegende Schmelzhälfte stärker fluoresziert als die äußere Schmelzhälfte.

Im Dentin zeigt sich eine deutlich höhere Fluoreszenz der jüngeren gegenüber den älteren Bereichen. Im Gegensatz zur Schmelzfluoreszenz ist im Dentin keine merkliche Erhöhung der Fluoreszenz bei zunehmender Fluoridierung festzustellen.

Es werden Vorschläge zur Verbesserung der Präparations- und Auswertetechnik gemacht, um noch bestehende mögliche systematische und zufällige Fehlerquellen zu beseitigen und das Verfahren für eine routinemäßige Anwendung besser geeignet zu machen.

LITERATURVERZEICHNIS

(1) ARMSTRONG, W.G.: FLUORESCENCE CHARACTERISTICS OF SOUND AND CARIOUS HUMAN DENTIN PREPARATIONS
Arch. Oral Biol. 8,79 - 90 (1963)

(2) ARMSTRONG, W.G.: ISOLATION OF FLUORESCENT COMPONENTS
HORSLEY, H.J. FROM OX-BONE, HUMAN DENTIN AND GELATINE.
Nature (Lond.) 211, 981 (1966)

(3) ARMSTRONG, W.G.: ISOLATION AND PROPERTIES OF FLUORESCENT
HORSLEY, H.J. COMPONENTS ASSOCIATED WITH CALCIFIED TISSUE COLLAGEN.
Calc. Tiss. Res. 8, 197-210 (1972)

(4) BENEDICT, H.C.: A NOTE ON THE FLUORESCENCE OF TEETH IN ULTRAVIOLET RAYS.
Science 67, 442 (1928)

(5) BENEDICT, H.C.: THE FLUORESCENCE OF TEETH AS ANOTHER METHOD OF ATTACK ON THE PROBLEM OF DENTAL CARIES. (Abstract)
J. Dent. Res. 9, 274 (1929)

(6) BERKOVITZ, B.K.B.: THE EFFECT OF FLUORIDE ON IRON,
HEAP, P.F. CALCIUM AND PHOSPHORUS DISTRIBUTION IN THE RAT INCISOR
Caries Res. 10, 337-351 (1976)

(7) BOEDECKER, VITALITY OF THE DENTAL TISSUES III:
Ch. F.: DIFFERENCES IN FLUORESCENCE OF VITAL AND PULPLESS TEETH.
J. Dent. Res. 18,165 (1939)

(8) BOMMER, S.: ÜBER SICHTBARE FLUORESZENZ BEIM MENSCHEN.
Acta.derm.-ven. 10,253-315 (1929)

(9) BONNEKAMP, H.: KARIESBEFALL SOWIE FLUORIDKONZENTRATIONEN IN PLASMA UND HARTGEWEBEN DER RATTE NACH UNTERSCHIEDLICHER ENTERALER VERABREICHUNG VON FLUORID.
Inaug. Diss. Würzburg 1977

(10) BRANCHINI, C.: ZANOTTI, L. DATA COMPARATIVI SULLA FLUORESCENZA DELLA SMALTO IN VARI TIPI DI DENTI.
Arch. Stomatol. 10, 93 (1969)

(11) BROWN, W.L.: LUMINESCENCE IN MINERALS
Univ. Tor. Studies,
Geol. Series No. 40, 155-157 (1937)

(12) BYLER, W.H.: INORGANIC PHOSPHORS WITHOUT METALLIC ACTIVATOR
J. Amer. Chem. Soc. 60, 1247-1252 (1938)

(13) CONNE, P.H.: BAUME, L.J. THE CALCIFICATION PATTERN IN THE ENAMEL OF THE RAT INCISOR.
Helv. Odont. Acta 14, 17-21, (1970)

(14) DAKE, H.C.: DE MENT, J. FLUORESCENT LIGHT AND IT'S APPLICATION
New York Chem. Publ. Co. (1941)

(15) DE MENT, J.: PHOSPHORESCENCE OF HUMAN TEETH.
Science 94, 90-91 (1941)

(16) EISENBERG, M.J.: PHENOMENA OBSERVED BY SUBJECTING DENTAL TISSUES TO ULTRAVIOLET RAYS CORRESPONDING TO APPROXIMATELY 3590 A.U.
Dent.Cosmos 75, 284 (1933)

(17) FONDA, G.R.: GLASSER, J. THE FLUORESCENCE OF DOUBLE SALTS OF CALCIUM PHOSPHATE. J. Amer. Chem. Soc. 60, 722 (1938)

(18) FRANK, R.M.: CONCEPTIONS NOUVELLES CONCERNANT L'EMAIL ET SA GENESE. Arch. Oral. Biol. 4, 29-33 (1961)

(19) FRANK, R.M.: SOGNNAES, R.F. ELECTRON MICROSCOPY OF MATRIX FORMATION AND CALCIFICATION IN THE RAT ENAMEL. Arch. Oral. Biol. 1,339-348 (1960)

(20) FUCHS, M.: JANCZUK, Z. ÜBER DIE FLUORESZENZ DER MUND-HÖHLE UND DER ZÄHNE Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 69,33-47 (1959)

(21) GRAY, A.M.H.: HAEMATOPORPHYRIA CONGENITA WITH HYDROA VACCINIFORME AND HIRSUTIES. Quart. Journ. Med. 19, 381-392 (1926)

(22) GUSTAFSON, G.: THE STRUCTURE OF HUMAN DENTAL ENAMEL. Odont. Tidskr. 53, Gothenburg (1945)

(23) HABERLANDT, H.: SPEKTRALANALYTISCHE UNTERSUCHUNGEN UND LUMINESZENZUNTERSUCHUNGEN AN FLUORITEN UND APATITEN Sitzungsberichte d. mathem. - naturw. Kl., Abt. IIa, 147. Bd., 137 - 150 (1938)

(24) HADJIOLOFF, A.: LA METHODE LUMINOSCOPIQUE ET SON APPLICATION POUR L'ETUDE DES DENTS. Tandl. bladet 41, 509-512 (1937)

(25) HADJIOLOFF, A.: RUSSEWA, J. BEITRÄGE ZUR LUMINESZENZANALYSE DER ZÄHNE. Dtsch. Zahn-, Mund- und Kieferheilk. 8, 491-499 (1941)

(26) HALS, E.: FLUORESCENCEMICROSCOPY OF DEVELOPING AND ADULT TEETH. Odont. Tidskrift (1953) 1/2,I-XII, 1-130

(27) HALSE, A.: AN ELECTRON MICROPROBE INVESTIGATION OF THE DISTRIBUTION OF IRON IN THE RAT INCISOR ENAMEL. Scand. J. Dent. Res. 80, 26-39 (1972)

(28) HALSE, A.: ELEMENTAL COMPOSITION OF THE SUPERFICIAL LAYER OF RAT INCISOR ENAMEL. Calc. Tiss. Res. 16, 139-144 (1974)

(29) HAMPERL, H.: DIE FLUORESZENZMIKROSKOPIE MENSCHLICHER GEWEBE. Arch. f. path. Anat. u. Physiol. 292, 1-51 (1934)

(30) HARTLESS, R.L.: LEAVER, A.G. THE FLUORESCENCE OF TEETH UNDER ULTRAVIOLET IRRADIATION. Biochem. J. 54, No. 4, 632-638 (1953)

(31) HARTLESS, R.L.: LEAVER, A.G. THE IDENTIFICATION OF PYRIMIDINES IN THE FLUORESCING FRACTIONS OF THE TEETH OF THE SPERM WHALE (PHYSETER MACROCEPHALUS). J. Dent. Res. 34, 820-830 (1955)

(32) HEYNE, J.: ZAHNUNTERSUCHUNGEN IM LUMINESZENZ-LICHT Inaug. Diss. Rostock (1932)

(33) HOERMAN, K.C.: MANCEWICZ, S.A. CHARACTERISTICS OF INSOLUBLE PROTEIN OF TOOTH AND BONE I: FLUORESCENCE OF SOME ACIDIC HYDROLYTIC FRAGMENTS. Arch. Oral. Biol. 9, 535 (1964)

(34) HOERMAN, K.C.: BALEKJIAN, A.Y. ABSTRACT 86, FROM THE INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR DENTAL RESEARCH 44TH GENERAL MEETING: ON THE PROBABILITY, THAT THE CROSS-LINK OF COLLAGEN IS ITS PRIME LUMINESCENT CENTRE. J.Dent.Res. Suppl. I.A.D.R. Abstract No. 86, 59 (1966)

(35) HORSLEY, H.J.: AN INVESTIGATION INTO THE ISOLATION AND PROPERTIES OF FLUORESCENT MATERIAL IN CALCIFIED TISSUES. M. Phil. Thesis (University of London) (1967)

(36) IWASE, E.: ÜBER DAS FLUORESZENZSPEKTRUM DES APATITES IM ULTRAVIOLETTEN LICHTE. Sc. Pap. I.P.C.R. No. 567, Vol. 27 (1935)

(37) JÄGER, F.: ÜBER DEN SCHÄDIGENDEN EINFLUSS DER WASSERRETENTION IM KINDLICHEN ORGANISMUS AUF DIE ENTWICKLUNG DER ZÄHNE. Zahnärztl. Rundschau 1933, 1002-1005, 1047 - 1051

(38) JANSEN, M.T.: VISSER, J.B. PERMEABLE STRUCTURES IN NORMAL ENAMEL. J.Dent.Res. 29, 622-632 (1950)

(39) JENKINS, R.: MICROSCOPY WITH FLUORESCENT LIGHT. Stain Technol. 12, 167 - 173 (1937)

(40) JUGEL, H.: EINE NEUE METHODE: SCHMERZSTILLUNG MIT DEM U.V. FILTER.
Zahnärztl. Rundschau 1937, 1126-1130

(41) KOENIGSWALD, W. von: SCHMELZSTRUKTUR UND MORPHOLOGIE IN DEN MOLAREN DER ARVICOLIDAE (RODENTIA)
Abh. senckenb. naturforsch. Ges. 539, 1-129, Frankfurt a.M. 14.06.1980

(42) KOENIGSWALD, W. von: Mündliche Mitteilung 1980

(43) LABELLA, F.S.: "SECOND CANADIAN CONFERENCE ON RESEARCH IN RHEUMATIC DISEASES": ANALYSIS OF FLUORESCENCE IN ELASTIN, COLLAGEN AND PROCOLLAGEN.
Canadian Arthritis and Rheumatism Society, Toronto, 1961, 221-224

(44) LAMENDIN, H.: RAGOT, J.P. STÜTZER, H. DIE VERWENDUNG VON GEFÄRBTEM UND FLUORESZIERENDEM METHYLMETACRYLAT FÜR DIE HERSTELLUNG VON DÜNNSCHLIFFEN, INSBESONDERE VON MENSCHLICHEN ZÄHNEN.
Leitz-Mitt. für Wissenschaft und Technik 6, 39 (1973)

(45) LARSON, R.H.: MELLBERG, J.R. ENGLANDER, H.R. SENNGING, R. CARIES INHIBITION IN THE RAT BY WATER-BORNE AND ENAMEL-BOUND FLUORIDE
Caries Res. 10, 321-331 (1976)

(46) LAURILA, U.R.: MANCEWICZ, S.A. FORZIATI, A.F. ISOLATION AND PARTIAL FRACTIONATION OF FLUORESCENT MATERIAL FROM HUMAN TEETH.(Abstr.)J. Dent. Res. 39, 714 (1960)

(47) LECKEBUSCH, R.: COMMENTS ON THE LUMINESCENCE OF APATITES FROM PANASQUEIRA (Portugal) N. Jb. Miner. Mh. Jg. 1979, H. 1, 17 - 21

(48) v. LEDDEN-HULSEBOSCH, C.J.: VERWENDUNG DER ULTRAVIOLETTEN STRAHLEN IN DER KRIMINALSTATISTIK. Arch. f. Kriminol. 78, 1-7 (1926)

(49) LEIX, R.: UNTERSUCHUNGEN MIT DEM DUNKEL-ULTRA-VIOLETTFILTER. Deutsche Monatschr. f. Zahnh. 48, 667-670 (1930)

(50) LENZ, H.: ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN DER SCHMELZGENESE. DZZ 13, 991-1005 (1958)

(51) MAACKE, C.H.: DIE HISTOLOGIE DER PORPHYRIZÄHNE. Vierteljahrschr. f. Zahnheilk. 1931, 191-202 (1931)

(52) MACKEY, L.: GARROD, A.E. A FURTHER CONTRIBUTION TO THE STUDY OF CONGENITAL PORPHYRINURIA (HAEMATOPORPHYRIA CONGENITA). Quart. J. Med. 19, 357-373 (1925)

(53) McCANN, H.G.: BULLOCK, S.A. REACTIONS OF FLUORIDE ION WITH POWDERED ENAMEL AND DENTIN J. Dent. Res. 34, 59 (1955)

(54) McCLURE, F.J. M.F.; PH.D. and FRANCIS A. ARNOLD; Jr., B.S., D.D. S.
OBSERVATIONS ON INDUCED DENTAL CARIES IN RATS
J. Dent. Res. 20, 97-106 (1941)

(55) McDEVITT, C.A.:
ISOLATION AND CHARACTERISATION STUDIES ON THE FLUORESCENT COMPOUNDS IN CALCIFIED TISSUES.
M. Phil. Thesis (University of London) (1970)

(56) MEINERSEN, H.:
FLUORESZENZERSCHEINUNGEN IN DER MUNDHÖHLE.
Diss. Würzburg 1952

(57) MGLEJ, S.F.: DURKACZ, K.P.
THE VALUE OF ULTRA-VIOLET LIGHT IN MACROSCOPIC EXAMINATION OF TEETH
Dent. Pract. 8, 136- 139 (1958)

(58) MÜHLEMANN, H.R.:
DIE KARIESPROPHYLAKTISCHE WIRKUNG DER AMINFLUORIDE. 10 JAHRE ERFAHRUNGEN.
Quintessenz 18, Ref. 3192 (1967)

(59) MÜHLEMANN, H.R.: ROSSINSKY, K. SCHAIT, A.
PHYSIKALISCHES, CHEMISCHES UND MIKROMORPHOLOGISCHES VERHALTEN VON SCHMELZ NACH BEHANDLUNG MIT ANORGANISCHEN UND AMINFLUORIDEN.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 77, 230 (1967)

(60) NEUMEYER, S.:
UNTERSUCHUNGEN AN SCHLIFFPRÄPARATEN VON RATTENSCHNEIDEZÄHNEN MIT UNTERSCHIEDLICHEM FLUORGEHALT ZUR BESTIMMUNG DER ABRIEBFESTIGKEIT UND DER LÖSLICHKEIT
Dissertation Würzburg (1980)

(61) NYLEN, M.U.:
EANES, E.D.
OMNELL, K.A.
CRYSTAL GROWTH IN RAT ENAMEL.
J. of Cell Biology 18, 109-123 (1963)

(62) NYLEN, M.U.:
ELECTRON MICROSCOPE AND ALLIED BIOPHYSICAL APPROACHES TO THE STUDY OF ENAMEL MINERALISATION.
J. of the Royal Microscopical Society 83, Pts 1 & 2, 135-141 (1964)

(63) NYLEN, M.U.:
OMNELL, K.A.
LÖFGREN, C.G.
AN UNUSUAL STRUCTURE ASSOCIATED WITH THE ONSET OF PRISM FORMATION IN RAT INCISOR ENAMEL. AN ELECTRON MICROSCOPIC STUDY.
Tandlaegebladet 74, 685-695 (1970)

(64) PAUTARD, F.G.E.:
MINERAL-FIBER RELATIONSHIPS IN THE DEVELOPEMENT OF BONE, DENTIN, AND ENAMEL.
J. Dent. Res. 38, 1214 (1959)

(65) PILLER, H.:
MICROSCOPE PHOTOMETRY
Springer Verlag
Berlin, Heidelberg, New York 1977

(66) RADLEY, J.A.:
GRANT, J.
FLUORESCENCE ANALYSIS IN ULTRA-VIOLET LIGHT.
D. Van Nostrand Co., New York 1933, p. 21

(67) REGOLATI, B.:
SCHAIT, A.
SCHMID, R.
MÜHLEMANN, H.R.
THE EFFECT OF TITANIUM, ALUMINIUM AND FLUORIDE ON RAT CARIES
Helv. Odont. Acta 18, 92-96 (1974)

(68) REYNOLDS, L.:
CORRIGAN, K.E.
HAYDN, H.S.
MACIE, I.G.
HUNSCHER, H.A.
DIFFRACTION STUDIES OF THE EFFECT OF NaF AND PARATHORMONE UPON THE INCISORS AND TIBIAE OF RATS.
Am.J.Roentgenol. 39, 103-126 (1938)

(69) ROBERTS, ROBIN A.:
SYNERGISTIC EFFECT OF MOLYBDENUM AND FLUORIDE UPON CARIES IN THE RAT
J. Dent. Res. 40, 724 (1961)

(70) SAUERWEIN, E.:
KARIOLOGIE
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1974)

(71) SCHARF, F.:
SPEKTROPHOTOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN DER FLUORESZENZ VON ZAHNHARTSUBSTANZEN.
Dtsch. zahnärztl. Z. 29, 920-922 (1974)

(72) SCHROEDER, H.E.:
ORALE STRUKTURBIOLOGIE.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1976)

(73) SHUPE, J.L.:
ALTHER, E.W.
THE EFFECT OF FLUORIDE ON LIVESTOCK, WITH PARTICULAR REFERENCE TO CATTLE.
In: Handbook of experimental pharmacology (Eichler, O., Farah, A., Herken, H., Welch, A.D., eds.), vol. XX/1, p. 307 - 354. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

(74) SHINODA, H.:
EFFECT OF LONG-TERM ADMINISTRATION OF FLUORIDE ON PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF THE RAT INCISOR ENAMEL.
Calc. Tiss. Res. 18,91-100 (1975)

(75) SMITH, C.E.: WARSHAWSKY, H. MOVEMENT OF ENTIRE CELL POPULATIONS DURING RENEWAL OF THE RAT INCISOR AS SHOWN BY RADIOAUTOGRAPHIE AFTER LABELING WITH ^{3}H-THYMIDINE. The Amer. J. of Anatomy 145, No. 2 (1976)

(76) STÜBEL, H.: DIE FLUORESZENZ TIERISCHER GEWEBE IM ULTRAVIOLETTEN LICHT. Pflügers Arch. f. d. gesamt. Physiol. 142, 1-14 (1911)

(77) SUTRO, C.J.: FLUORESCENT MICROSCOPY Arch. Path. 22, 109-112 (1936)

(78) TIEDE, E.: CHOMSE, H. ÜBER DIE LUMINESZENZ DER ZÄHNE. Ber. deutsch. chem. Ges. 67, 1988-1992 (1934)

(79) VASILOW, C.J.: LIMNIESCENTNYI ANALIZ W STOMATOLOGIJI Stomatol. Moskwa 36, 12-15 (1957)

(80) WARSHAWSKY, H.: SMITH, C.E. A THREE-DIMENSIONAL RECONSTRUCTION OF THE RODS IN RAT MAXILLARY INCISOR ENAMEL. The Anatomical Record 169, No. 3 (1971)

(81) WARSHAWSKY, H.: SMITH, C.E. MORPHOLOGICAL CLASSIFICATION OF RAT INCISOR AMELOBLASTS. The Anatomical Record 179, No. 4 (1974)

(82) WEATHERELL, J.A.: DEUTSCH, D. ROBINSON, C. HALLSWORTH, A.S. ASSIMILATION OF FLUORIDE THROUGHOUT THE LIFE OF THE TOOTH. Car. Res. 11, Suppl. 1, 85 - 115 (1977)

(83) WEIDMANN, S.M.: INITIATION AND CALCIFICATION IN HARD TISSUES
J. Dent. Res. 38, 1213 (1959)

(84) WIETHOLD, F.: DIE BEDEUTUNG DER ANALYSENQUARZ-LAMPE FÜR DIE GERICHTSÄRZTLICHE TECHNIK!
Deutsch. Ztschr. f. die gesamt. gerichtl. Medizin 7,600-604 (1926)

(85) WITKOP, J.C.J.: WOLF, R.O. HYPOPLASIA AND INTRINSIC STAINING OF ENAMEL FOLLOWING TETRACYCLINE THERAPY.
J.Amer. Med. Ass. 185, 1008 - 1011 (1963)

(86) ZEGARELLI, E.B.: KUTSCHER, A.E. DENNING, L.R. FAHN, B. HOFFMANN, B.J. Zitiert nach McDEVITT (55)
J.Dent.Med. 20, 97 (1965)

(87) ZICHEL, G.: GERICHTLICH-MEDIZINISCHE UNTERSUCHUNGEN AN ZÄHNEN UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG IHRER LUMINESZENZ.
Inaug. Diss. Halle (1933)

LEBENSLAUF

1949	am 03.04. in Rheinbach bei Bonn als erstes Kind der Eheleute Franz und Maria Klinke geboren
1955 - 1959	Besuch der Katholischen Volksschule in Rheinbach
1959 - 1967	Besuch des Städtischen Gymnasiums in Rheinbach, mit der Reifeprüfung am 04. Juli 1967.
1967 - 1969	Grundwehrdienst in der Bundeswehr
1969 - 1970	Studium der Elektrotechnik an der TH Aachen
1971 - 1972	Praktikum als Apothekerpraktikant in einer Apotheke
1972 - 1973	Studium der Pharmazie an der Universität Frankfurt
1973 - 1979	Studium der Zahnmedizin an der Universität Würzburg
	16.10.1974: Naturwissenschaftliche Vorprüfung
	28.04.1976: Zahnärztliche Vorprüfung
	23.01.1979: Zahnärztliche Prüfung
	08.02.1979: Bestallung als Zahnarzt
ab März 1979	Assistent in zahnärztlicher Praxis

U. J. Klix